STÖRUNGEN DER LYMPHOZYTENREZIRKULATION ALS AUSDRUCK DER IMMUNSUPPRESSION

VERGLEICHENDE UNTERSUCHUNGEN AN DEN MILZEN PLASMODIUM BERGHEI INFIZIERTER MÄUSE UND RATTEN

INAUGURAL–DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
zu Bonn

vorgelegt von
MARTIN BITZAN
aus Bückeburg

BONN 1980

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546508_0022

STÖRUNGEN DER LYMPHOZYTENREZIRKULATION ALS AUSDRUCK DER IMMUNSUPPRESSION

VERGLEICHENDE UNTERSUCHUNGEN AN DEN MILZEN PLASMODIUM BERGHEI INFIZIERTER MÄUSE UND RATTEN

INAUGURAL–DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
zu Bonn

vorgelegt von
MARTIN BITZAN
aus Bückeburg

BONN 1980

Angefertigt mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: Prof. Dr. G. Piekarski

2. Gutachter: Prof. Dr. H. Brandis

Aus dem Institut für Medizinische Parasitologie der
Universität Bonn

Prof. Dr. G. Piekarski

Druck: Dissertationsdruck M. Wehle, Hauptstr. 240
5305 Witterschlick/Bonn; Tel. 0228/641113

INHALT

1. Einleitung

2. Material und Methoden

3. Ergebnisse

3.1. P.berghei - infizierte Mäuse (Erstinfektion)

3.2. P.berghei - infizierte Ratten (Erstinfektion)

3.3. Immunisierte und re-infizierte Mäuse

3.4. Histologische Untersuchungen der Milzen von infizierten Mäusen und Ratten

4. Diskussion

5. Zusammenfassung

6. Schrifttum

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Begriffsklärungen und verwendete Abkürzungen

cpm	"counts per minute" (Oszillationen, die von der Objektstrahlung ausgehen und vom "Counter" registriert werden, gemittelt auf 1 min)
(^{51}CyLy)	mit dem radioaktivem Chromisotop (^{51}Cr) markierte Lymphozyten
FCS	Fetal Calf Serum (Rinderserum)
Homing	("Heimkehr"): Verteilung der radioaktiv markierten injizierten syngenischen Lymphozyten auf ein bestimmtes Organ. Der Begriff wird verwandt als Parameter für die natürliche Verteilung der rezirkulierenden Lymphozyten im Versuchstier (ausgedrückt in Prozent der injizierten Radioaktivität).
"Spezifisches Homing":	die auf eine Gewichtseinheit des betreffenden Gewebes umgerechnete Menge gemessener Radioaktivität (radioaktiv markierter Lymphozyten): $\frac{\text{cpm (Organ)} \times 1o^{-1}}{\text{Gesamtmenge injiziertes cpm } (^{51}\text{CrLy}) \times \text{Milzgewicht (g)}}$ = Prozent "spezifisches Homing" (pro Gewichtseinheit)
MZ	Marginalzone (Randzonen der weißen Milzpulpa)
MZBC	Marginal Zone Bridging Channels: Von zirkulierenden Lymphozyten bevorzugte Bahnen im lymphatischen Gewebe der Milz
Organindex	Verhältniszahl des Organgewichts zum Gesamtkörpergewicht des Versuchstieres
PABA	para-Aminobenzoesäure
PALS	peri-arterioläre lymphatische Scheide
PHA	Phythämagglutinin (Mitogen)
SRBC	Schafserythrozyten (sheep red blood cells)

Trapping ("Fallenstellen"): Vorgang der Rekrutierung von Lymphozyten durch ein adäquat stimuliertes (lymphatisches) Gewebe

$$\frac{\text{Stim. Gew. (cpm) - unstim. Gew. (cpm)}}{\text{unstim. Gew. (cpm)}} \times 10^2$$

= Prozent Trapping

"Spezifisches Trapping": Analog zum "spezifischen Homing" ist der auf eine Gewichtseinheit des Organs umgerechnete Trappingeffekt gemeint.

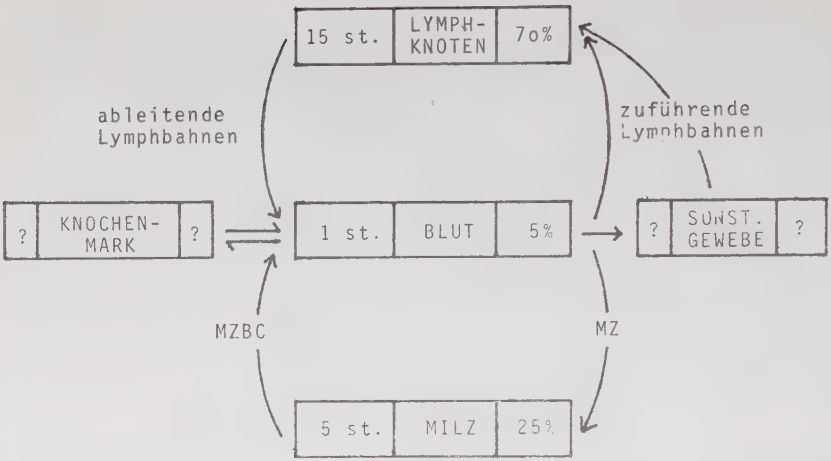
$$\frac{\text{0.1 g stim.Org.(cpm) - 0.1 g unstim.Org.(cpm)}}{\text{0.1 g unstim.Organ (cpm)}} \times 10^2$$

= Prozent "spezifisches Trapping"

"Homologes Trapping": Als Kontrollorgan dient das Organ eines nicht stimulierten Versuchstieres, das sich im gleichen Infektionsstadium befindet wie das stimulierte Tier.

1. Einleitung

Lymphozyten finden sich in den sog. lymphatischen Organen (Thymus, Lymphknoten, Milz), in lymphatischem Gewebe, das in anderen Organen eingebettet liegt, sowie isoliert infiltrierend in Epithel und Bindegewebe; nur ca. 2% aller Lymphozyten kreisen mit dem Blut und der Lymphe (Leonhardt, 1974; Raviola, 1974). Lymphatische Zellen sind bezüglich ihrer Morphologie, Lebensspanne und Funktion heterogen. Sie lassen sich in mindestens zwei Subklassen unterteilen: in Lymphozyten, die kontinuierlich zwischen Blut und Lymphe rezirkulieren (Gowans, 1959; Gowans u. Knight, 1964), und in "sessile" (ortsständige) Zellen. Ca. 85% der rezirkulierenden Lymphozyten von Mäusen sind T-Zellen. Sie besiedeln vorzugsweise sog. thymusabhängige Bereiche der lymphatischen Organe (z.B. die periarteriolären lymphatischen Scheiden (PALS) der weißen Milzpulpa), und sie stellen den überwiegenden Anteil der Zellen in den Lymphknoten. "Sessile" Zellen gehören zum großen Teil zur Gruppe der B-Zellen, die sich von den T-Zellen durch charakteristische Strukturen der Zellmembran, durch ihre Lebensdauer und ihre immunbiologischen Funktionen unterscheiden. Sie rezirkulieren langsamer als die T-Zellen und besiedeln vorzugsweise die thymusunabhängigen Areale der lymphatischen Organe (z.B. die "Follikel" von Lymphknoten und Milz).
Die Verteilung der lymphoiden Zellen auf die lymphatischen Organe kann mit Hilfe einer Radiochrommarkierung dargestellt werden (Gowans u. Knight, 1964; Zatz u. Lance, 197o; Howard, Hunt u. Gowans, 1972). Aus Lymphknoten gewonnene Zellen finden sich nach i.v. Injektion in normalen Empfängertieren in einem bestimmten Verhältnis in Lymphknoten, Milz und Leber, sowie in der Lymphe des Ductus thoracicus und im Blut. Dieses Phänomen wird "Homing" genannt. Nur ein sehr kleiner Prozentsatz wird im Knochenmark oder Thymus aufgefunden (s. auch Bainbridge, Brent u. Gowland, 1966). Die bisherigen Erkenntnisse über die Rezirkulationsdauer der Lymphozyten und über die betroffenen Organe wurden von Ford (1975) zusammengefaßt (s. Schema 1).



SCHEMA 1. Schema der Lymphozytenrezirkulation

Mit Rezirkulation wird der "Kreislauf" der kleinen, langlebigen Lymphozyten bezeichnet, die aus der Blutbahn auswandern, über Lymphgefäße und Gewebsspalten Lymphknoten, Milz und andere periphere lymphatische Organe erreichen und (zum großen Teil über den Ductus thoracicus) zurück in die Blutbahn strömen (Bloom u. Fawcett, 1975)

st. (Stunden) = geschätzte Zeit, in der die markierten Lymphozyten das betreffende Organ durchlaufen haben.

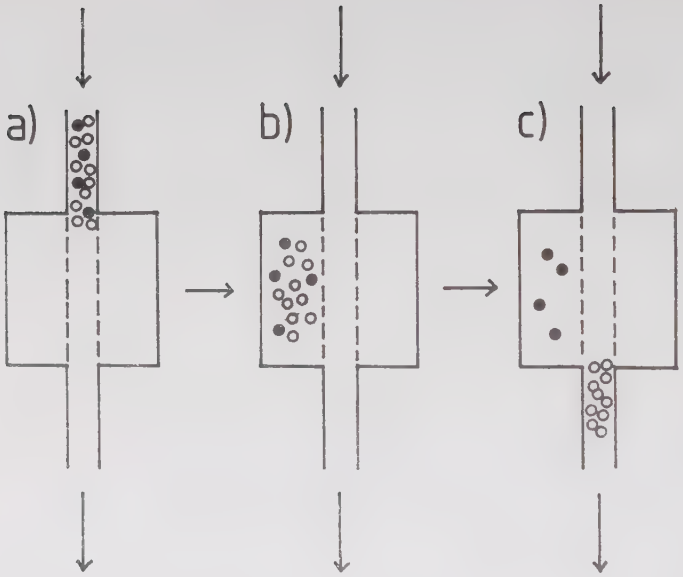
(Prozent) = Verteilung der rezirkulierenden T-Zellen auf die genannten Organ.

MZBC = "Marginal Zone Bridging Channels" (Mitchell, 1973)

MZ = Marginalzone (Randzonen der weißen Milzpulpa)

(Unter leichten Veränderungen übernommen aus: Ford, 1975, S. 7
Die zitierten Daten wurden mit adulten Ratten erzielt.)

Zatz u. Lance (1971) stimulierten Mäuse mit unterschiedlichen Antigenen (Schafserythrozyten, Salmonella typhi H, keyhole limpet hemocyanin) und untersuchten die Verteilung von anschließend injizierten Lymphozyten. Sie fanden in den lymphatischen Organen eine vorübergehende Anreicherung der Lymphozyten über die Homingrate hinaus. Diese Retention von Lymphozyten nannten sie "Trapping" (vergl. auch Hall u. Morris, 1965; Ford, 1969). Sein genauer Mechanismus ist noch Gegenstand kontroverser Diskussionen. Möglicherweise fördert er den Kontakt zwischen Antigen und immunkompetenten Zellen als Voraussetzung für eine wirkungsvolle Immunantwort, evtl. unter der Vermittlung von Makrophagen oder Retikulumzellen (s. Schema 2).
In der vorliegenden Studie soll das Phänomen der Rekrutierung von Lymphozyten in der Milz von Mäusen und Ratten im Laufe einer Plasmodieninfektion untersucht werden.
Ein charakteristisches Merkmal der Plasmodieninfektion ist die Vergrößerung der Milz, sowohl beim infizierten Menschen, als auch beim Versuchstier. Die Überschwemmung des infizierten Organismus mit den Malariaparasiten führt neben der Vergrößerung auch zu einer funktionellen und histologischen Umgestaltung der Milz (Moran, de Rivera u. Turk, 1973; Singer, 1954; Corradetti u. Rigoli, 1961, zitiert nach Garnham, 1966). Abweichungen werden auch in der Zahl und der Art der lymphatischen Zellen der Milz beobachtet. Solche Veränderungen beeinflussen erwartungsgemäß die immunbiologische Funktion dieses wichtigen lymphatischen Organs während der Plasmodieninfektion (Greenwood, Playfair u. Torrigiani, 197o: 1971). An Bewohnern endemischer Malariagebiete waren Abwehrschwächen besonders gegenüber pathogenen Keimen im Respirations- und Magen-Darm-Trakt aufgefallen, sowie eine ausbleibende bzw. verminderte Antikörpersynthese nach Vakzinationen (McGregor u. Barr, 1962; McGregor, 1972; Greenwood, Bradley-Moore, Palit u. Bryceson, 1972; Salaman, 197o).
Bei Laboratoriumsinfektionen mit P.berghei an Mäusen und Ratten wurden Depressionen der humoralen und der zellulären Immunantwort beschrieben (Salaman, Wedderburn u. Bruce-Chwatt, 1969;



SCHEMA 2: Die "Lymphozytenfalle". Spekulative Skizze zur Verdeutlichung des "Trapping" in der Milz.

(a) Antigenapplikation (Schafserythrozyten)

(b) 24 Stunden darauf: Unspezifisch werden Lymphozyten aus der rezirkulierenden Population in der Milz retiniert (Trapping).

(c) Einige der "gefangenen" Lymphozyten ("memory cells"?) bleiben in der weißen Pulpa zurück.

o = rezirkulierende Lymphozyten

● = "memory cells", sensibilisierte Lymphozyten

(Skizze nach Zatz u. Lance (1971), S. 238, unter textlichen Veränderungen)

Salaman u. Wedderburn, 197o; Barker, 1971; Golenser, Spira u. Zuckerman, 1973; 1975; Golenser, Shmuel, Jacobson u. Spira, 1974; Jayawardena et al., 1975; Zuckerman, 1977). Die Plasmodien bewirken im befallenen Organismus offenbar eine zumindest partielle Blockierung des Immunsystems.

In der vorliegenden Untersuchung soll die von injizierten Schafserythrozyten induzierte Rekrutierung rezirkulierender Lymphozyten in Mäusen und Ratten während verschiedener Stadien der Plasmodieninfektion geprüft werden. Die Ergebnisse sollen im Zusammenhang mit den zitierten Beobachtungen einer Plasmodien-induzierten Immunsuppression diskutiert werden.

2. Material und Methoden

Versuchstiere: Zur Verwendung kamen Mäuse vom Inzuchtstamm BALB/c und Ratten vom Inzuchtstamm LEWIS aus der Zuchtanstalt der Hebräischen Universität in Jerusalem/Israel. Die Mäuse wogen zwischen 19 und 24 Gramm, die Ratten zwischen 12o und 2oo Gramm.

Plasmodien: Die Versuchstiere wurden mit P.berghei (Stamm ANKA) infiziert; der Stamm war etwa wöchentlich über Blutpassagen in BALB/c-Mäusen resp. LEWIS-Ratten übertragen worden. Ratten wie Mäuse erhielten intraperitoneal eine Standarddosis von $1 \times 1o^6$ parasitierten Erythrozyten. Täglich wurden Blutausstriche angefertigt, nach Giemsa gefärbt und der prozentuale Anteil befallener Erythrozyten ausgezählt.

Immunisierung: Sechs Wochen alte BALB/c-Mäuse, die bis dahin mit der üblichen Mischkost gefüttert worden waren, wurden mit $1 \times 1o^6$ P.berghei infiziert und auf eine para-Aminobenzoesäure (PABA) freie Diät umgestellt (Trockenmilchpulver "biolac" und Leitungswasser), um das Ausmaß der Parasitämie herabzudrücken. Täglich wurden Blutausstriche angefertigt und die Parasiten ausgezählt. Die PABA-freie Diät wurde über 3 bis 4 Wochen gereicht, danach erhielten die Mäuse wieder die übliche Mischkost. Zwei bis dreieinhalb Wochen nach der Umstellung von der PABA-Mangeldiät auf Mischfutter wurden die Mäuse mit $1 \times 1o^6$ P.berghei erneut intraperitoneal infiziert.

Antigen: Schafserythrozyten (SRBC) in Alsever-Lösung wurden in Hanks-Lösung gewaschen und auf $1o^9$ rote Blutkörperchen pro ml Suspension verdünnt. o.5 ml dieser Suspension wurden Mäusen und Ratten über die Schwanzvene injiziert.

Lymphozyten: Hals-, Axillar-, Inguinal- und Mesenteriallymphknoten von syngenischen Spendertieren wurden im Nährmedium RPMI-164o (Bio-Lab Ltd., Israel) gesammelt, das mit 1o% Rinderserum (FCS = Fetal Calf Serum) versetzt war. Die Lymphknoten wurden vorsichtig zerschnitten und durch ein feinmaschiges Sieb (6o-mesh) gepreßt, mit 164 G über 1o min. zentri-

fugiert, erneut mit RPMI/FCS versetzt und in einer verbesserten Neubauer-Kammer gezählt. 9o% der so erhaltenen Lymphozyten waren funktionstüchtig (gemessen im Farbausschlußtest mit Trypanblau).

M a r k i e r u n g der Lymphozyten : Die Zellen wurden mit dem radioaktiven Chromisotop (^{51}Cr) in einer Konzentration von ca. 5o µCi pro $1o^8$ Zellen und pro ml RPMI/FCS markiert (Scaife u. Vittorio, 1964). Das radioaktive Chrom wurde als sterile, isotone Lösung geliefert (CSJ.4, Radiochemical Centre, England). Die Zellen wurden 3o min. bei 37^oC inkubiert, dann zweimal in RPMI-Medium in der Kälte gewaschen und in einer Konzentration von $4 \times 1o^7$ Zellen pro ml RPMI resuspendiert. Den Versuchstieren wurde sofort anschließend o.5 ml der mit (^{51}Cr) markierten Lymphozyten ($^{51}CrLy$) in die Schwanzvene injiziert, d.i. $2 \times 1o^7$ Zellen pro Versuchstier.

A u f f i n d e n der markierten Lymphozyten : 22 bis 24 Stunden nach der ($^{51}CrLy$) - Injektion wurden die Tiere gewogen, Blut aus der Orbitalarterie oder durch Herzpunktion gewonnen und Hals-, Mesenterial- und Inguinallymphknoten der unter Äthernarkose getöteten Tiere herauspräpariert, desgl. Milz und Leber. Eine Blutprobe und die entnommenen Gewebe wurden gewogen und die Intensität ihrer radioaktiven Strahlung in einem Packard Auto-Gamma-Scintillationszähler gemessen.

Z e i t p l a n : Die Untersuchungen wurden während charakteristischer Phasen der Infektion durchgeführt: zu Anfang und zum Höhepunkt der Parasitämie, sowie nach dem Verschwinden der Parasiten aus dem peripheren Blut (bei Ratten). Bei den Mäusen entsprechen die genannten Stadien den Tagen 3, 8 und 13 nach der Infektion und bei den Ratten den Tagen 4, 13 und 23.

H i s t o l o g i e : Die in 4%igem Formalin fixierten Milzen von Ratten und Mäusen wurden im üblichen Verfahren in Paraffin eingebettet, geschnitten, auf Objektträger aufgezogen und mit Hämatoxylin gefärbt.

3. Ergebnisse

Die Untersuchungen erstreckten sich auf:
P.berghei-infizierte Mäuse (Erstinfektion; 3.1.),
P.berghei-infizierte Ratten (Erstinfektion; 3.2.),
immunisierte und re-infizierte Mäuse (3.3.) und
histologische Untersuchungen der Milzen von infizierten
Mäusen und Ratten (3.4.).

3.1. Erstinfizierte Mäuse

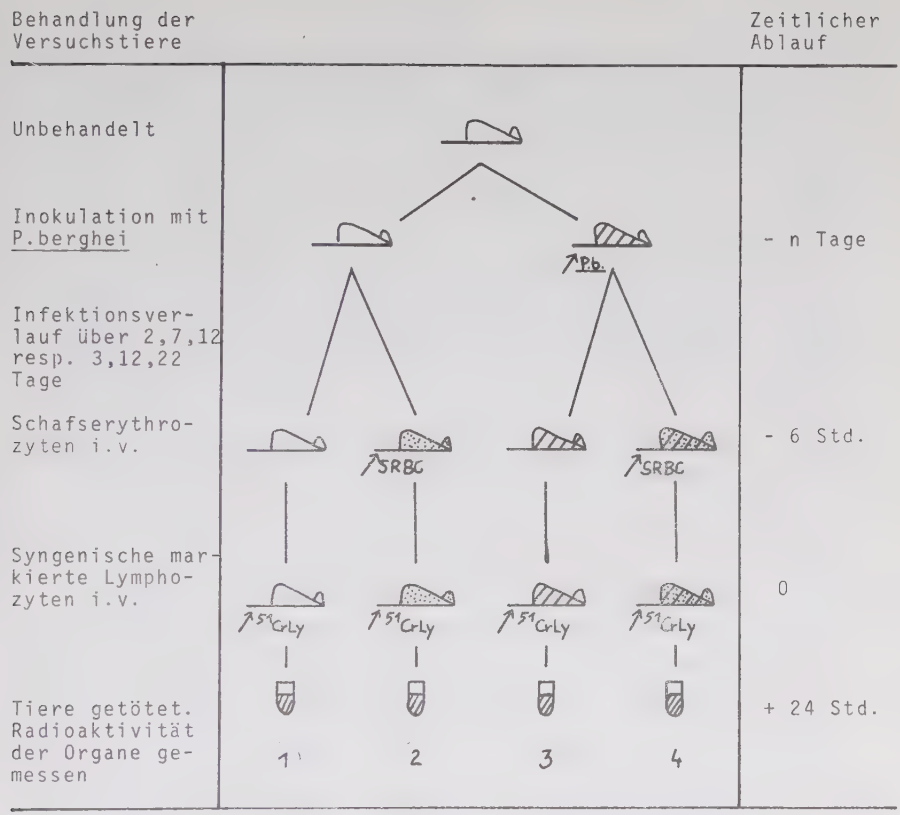
Die Mäuse wurden nach Zufallsverteilung für die Behandlung folgendermaßen gruppiert (s. auch Schema 3):

1) normale, unbehandelte Mäuse (Kontrollen)
2) mit Schafserythrozyten (SRBC) stimulierte Mäuse
3) mit P.berghei-infizierte Mäuse:
   a) 3. Tag post infectionem
   b) 8. Tag p.i.
   c) 13. Tag p.i.
4) mit P.berghei infizierte, SRBC-stimulierte Mäuse
   a) 3. Tag post infectionem
   b) 8. Tag p.i.
   c) 13. Tag p.i.

3.1.1. Normale, unbehandelte Mäuse

dienten als Kontrollen für die Gruppen 2 bis 4. Das durchschnittliche Milzgewicht betrug o.o9 g, das der Leber o.99 g (n = 33).

Verteilungsmuster (Homing) der chrommarkierten Lymphozyten: 25% des als Lymphozytenmarkierung injizierten Radiochroms (^{51}CrLy) finden sich nach 24 Stunden in der Leber, 15% in der Milz und ca. 4% im peripheren Blut (2.5% pro ml Blut). Die großen Lymphknoten des Organismus enthalten ca. 1o% der injizierten Radioaktivität: Halslymphknoten ca. 1.5%, inguinale Lymphknoten ca. 1.5% und die mesenterialen Knoten zwischen



SCHEMA 3. Schema der Versuchsanordnung für die Abschn. 3.1. u. 3.2. (erstinfizierte Mäuse resp. Ratten).

Legende:

- unbehandeltes Versuchstier
- mit P.berghei infiziert
- Versuchstier nach Infusion von Schafserythrozyten (SRBC)

P.b. P.berghei

SRBC Schafserythrozyten

Die Zahlen verweisen auf die Gruppen der Versuchstiere (s. 3.1. resp. 3.2.)

5 und 9%. Diese Verteilung der radioaktiv markierten und injizierten Lymphozyten im unbehandelten Versuchstier wird mit dem Begriff "Homing" (Heimkehr) umschrieben (Tab. 2).

3.1.2. S R B C - s t i m u l i e r t e M ä u s e :

Nach der Infusion von gewaschenen Schafserythrozyten (SRBC) nimmt das Milzgewicht gesunder Mäuse um ca. 2o% zu (Tab. 1). Die Gabe von Schafserythrozyten ändert das Rezirkulationsverhalten der sechs Stunden später injizierten markierten Lymphozyten. Die SRBC-stimulierte Milz enthält 24 Stunden nach der Lymphozyteninjektion mehr radioaktiv markierte Zellen als die nicht stimulierte Kontrollmilz; die Sequestrierungsrate über die natürliche "Heimkehr"-Rate hinaus beträgt 35 bis 4o% (Trapping; Tab. 4).

3.1.3. P. b e r g h e i - i n f i z i e r t e M ä u s e :

Die Infektion im verwendeten Mausstamm ist charakterisiert durch eine nach dem zweiten Tag langsam ansteigende Parasitämie mit einem ersten Gipfel etwa am sechsten Tag. Einem kurzen Rückgang folgt am 8. Tag ein fulminanter Anstieg des Anteils befallener Erythrozyten, bevorzugt der Retikulozyten, die jetzt deutlich vermehrt im peripheren Blut auftreten. Die Milz verdoppelt nahezu ihr Gewicht in den drei ersten Tagen; am 13. Tag nach der Infektion erreicht sie das Achtfache des Ausgangsgewichtes. Die Leber steigert in derselben Zeitspanne ihr Gewicht um ca. 5o% (Abb. 1).
Die infizierten Kontrolltiere starben drei bis vier Wochen nach der Infektion.

Wanderungsmuster der chrommarkierten Lymphozyten: Die Mäuse wurden während charakteristischer Stadien der Parasitämie (3., 8. und 13. Tag post infectionem) untersucht: Mit fortschreitender Parasitämie dient die Milz immer weniger rezirkulierenden Lymphozyten als "Heimkehr"-Gewebe; je stärker die Milz im Verlauf der Infektion anschwillt, desto weniger Lymphozyten vermag sie "aufzunehmen". Zu Beginn der Infektion steigt zwar der

Prozentsatz in der Milz aufgefundener Lymphozyten aus der Gesamtheit der injizierten Zellen an (2o% am 3. Tag; normal: 15%). In der Folge tritt jedoch ein deutlicher Funktionsverlust ein: fast zwei Wochen post infectionem kehren nurmehr 4.7% der injizierten Lymphozyten "heim", während dasselbe Organ sein Gewicht verachtfacht hat.
Einen zusätzlichen Maßstab, mit dem sich Struktur- und Funktionsveränderungen in der Milz schätzen lassen, bietet das "spezifische Homing", d.i. die Berechnung der auffindbaren Radioaktivität pro Gewichtseinheit Milz (z.B. pro o.1 g Organgewebe), ausgedrückt in Prozent:

$$\frac{\text{Radioaktivität der Milz (cpm)} \times 1o^{-1}}{\text{Gesamtmenge injiziertes cpm } (^{51}\text{CrLy}) \times \text{Milzgewicht (g)}}$$

= Prozent Homing pro Gewichtseinheit (o.1 g) Milz

Die Fähigkeit der Milz zum "spezifischen Homing" sinkt schon im Frühstadium der Infektion auf 2/3 der Kontrollen (3. Tag) und auf 1/25 des Ausgangsbetrages am 13. Tag. In o.1 g Milzgewebe werden nurmehr ca. dreimal soviel chrommarkierte Lymphozyten aufgefunden wie in o.1 ml Blut (Tab. 3).
Zwar führt die Plasmodieninfektion auch zu histologischen Veränderungen in der Leber (Maegraith, 1968), die Massenzunahme und der Verlust an "spezifischem Homing" aber sind geringer als in der Milz.
Inwieweit andere lymphatische Gewebe betroffen werden, konnte nicht geprüft werden.

3.1.4. Mit P. berghei infizierte, SRBC-stimulierte Mäuse

Mit dem Anstieg der Parasitämie führt die Injektion von Schafserythrozyten nicht mehr zu einem meßbaren Gewichtsanstieg der Milz.
Die Versuche wurden wiederum am 3., 8. und 13. Tag nach der Infektion mit P.berghei durchgeführt. Im Vergleich mit den nicht infizierten Kontrollmilzen zeigt sich zu Beginn der In-

fektion ein SRBC-bedingtes Trapping von 47%. In einem späteren Infektionsstadium erreicht die Lymphozytenzahl in der stimulierten Milz nicht einmal mehr die "Heimkehr"-Rate der Kontrollen: Am 8. Tag nach der Infektion wird ein "negatives Trapping" von (-)17% beobachtet, am 13. Tag von (-)61% (Abb. 2).
Bei der Berechnung des Trapping pro Gewichtseinheit der Milz ("spezifisches Trapping") fällt auf, daß die Antigenstimulation bereits in der Frühphase der Infektion keine zusätzliche Sequestrierung der rezirkulierenden Lymphozyten bewirkt. Im Gegenteil, ein "negatives (spezifisches) Trapping" von (-)36%, verglichen mit den gesunden Tieren, stellt sich am 3. Tag p.i. ein. Am 13. Tag wurden -95% gemessen (Abb. 3).

Die unmittelbare Wirkung der Antigengabe auf die Lymphozytenwanderung läßt sich erkennen, wenn Kontrolltiere des gleichen Infektionsstadiums herangezogen werden ("homologes Trapping"). Dabei erweist sich, daß der Stimulationseffekt bis zum 3. Tag auf 1o% sinkt und etwa 2 Wochen nach der Infektion die Milz nicht mehr durch SRBC zum Trapping stimuliert werden kann (Tab. 4).

3.2. Erstinfizierte Ratten

Die Ratten wurden nach Zufallsverteilung für die Behandlung folgendermaßen gruppiert (s. Schema 3):

1) normale, unbehandelte Ratten
2) mit Schafserythrozyten (SRBC) stimulierte Ratten
3) mit P.berghei infizierte Ratten
   a) 4. Tag post infectionem
   b) 13. Tag p.i.
   c) 23. Tag p.i.
4) mit P.berghei infizierte, SRBC-stimulierte Ratten
   a) 4. Tag post infectionem
   b) 13. Tag p.i.
   c) 23. Tag p.i.

3.2.1. Normale, unbehandelte Ratten

dienten den Gruppen 2 bis 4 als Kontrolle. Das durchschnittliche Gewicht der Milz betrug o.35 g und das der Leber 6.48 g (n = 24).

Verteilungsmuster (Homing) der chrommarkierten Lymphozyten: Die injizierten Lymphozyten verteilen sich auf die untersuchten Organe folgendermaßen:

Leber	2o%
Milz	15%
Lymphknoten, Summe (cervical, inguinal, mesenterial)	13%
Blut	ca. 7%

3.2.2. SRBC-stimulierte Ratten:

Die Stimulation von Ratten mit Schafserythrozyten führt zu einer Steigerung der Lymphozytenlokalisation in der Milz um 17%. Eine deutliche Gewichtszunahme der Milz aufgrund der Erythrozytengabe konnte nicht gemessen werden. Bei der Mehrzahl der Versuche ging die SRBC-bedingte Zunahme der Lymphozyten in der Milz mit einer Verringerung der Anzahl markierter Zellen in der Leber einher.

3.2.3. P. berghei-infizierte Ratten:

Infektionsverlauf: Die Parasitämie entwickelt sich zunächst allmählich. Nach der 1. Woche, etwa am 9. Tag nach der Infektion, nimmt die Parasitendichte sprunghaft zu. Im peripheren Blutausstrich sind jetzt vermehrt Retikulozyten zu sehen, die wiederum bevorzugt Plasmodien enthalten.
Ratten mit einem Gewicht zwischen 8o und 12o g am Tag der Infektion mit P.berghei starben in der 3. Woche (9 von 9 Versuchstieren). Bei jedem dieser Versuchstiere entwickelte sich eine Parasitämie von über 5o%.
Von den adulten Versuchstieren (Körpergewicht zum Zeitpunkt

der Inokulation über 12o g) starben 47% während der Beobachtungsdauer von 23 Tagen (15 von 32 Tieren), die meisten während der 3. Woche. Alle nicht infizierten Kontrolltiere überlebten. (Zur Frage der Abhängigkeit des Infektionsverlaufs von Alter und Gewicht der Ratten s. auch Zuckerman u. Yoeli, 1954). Das Milzgewicht der Ratten erreicht am 13. Tag das Zwölffache des Ausgangsgewichtes (durchschnittlich 4.2 g, n= 34; Abb. 4). Die Versuchstiere entwickelten individuell z.T. stark unterschiedlich ausgeprägte Splenomegalien. Die Leber dieser Tiere wog durchschnittlich 1o g.

Verteilungsmuster chrommarkierter Lymphozyten während der Parasitämie: Während charakteristischer Phasen der Parasitämie (Anfangsstadium, Höhepunkt des Erythrozytenbefalls, Verschwinden der Parasiten aus dem Blut) wurde die Verteilung markierter Lymphozyten untersucht. In der Milz steigt die registrierte Radioaktivität im Laufe der Infektion bis zum Erlöschen der Parasitämie an: Dort werden zum Höhepunkt der Parasitämie (13. Tag) 25% der injizierten (^{51}CrLy) aufgefunden. Am 23. Tag, wenn sich die Splenomegalie bereits zurückgebildet hat, werden 28% gemessen. Dem Gewichtsanstieg der Milz auf das 12fache steht demnach eine Zunahme der markierten Lymphozyten nur um das Doppelte gegenüber. Mit dem Rückgang der Parasitämie und der Verkleinerung der Milz nach dem Höhepunkt der Infektion steigt der "Homing-Index" ("spezifisches Homing") wieder an (Tab. 7).

3.2.4. P. berghei infizierte, SRBC-stimulierte Ratten:

Die Injektion von Schafserythrozyten bewirkt eine Zunahme der (^{51}CrLy) - Fraktion in der Milz während der Parasitämie. Bis zum 4. Tag p.i. verdoppelt sich das Trapping im Vergleich zu normalen Ratten; es versechsfacht sich bis zum Höhepunkt der Parasitämie am 13. Tag (Tab. 8). Die hohen Trappingergebnisse sind die Folge der Steigerung des Milzgewichtes. Eine Berechnung auf der Basis der Gewichtseinheit weist den lienalen Funktionsverlust nach: am 13. Tag p.i. wird ein "negatives

Trapping" von (-)86% beobachtet.
Vergleiche mit Kontrolltieren des gleichen Infektionsstadiums ("homologes Trapping") machen deutlich, daß man nur bis zum 4. Tag von einem Stimulationseffekt durch die SRBC-Gabe sprechen kann (1o%). Zu einem späteren Zeitpunkt injiziertes Antigen bewirkt kein Trapping mehr (Tab. 8). Nach überstandener Infektion gewinnt die Rattenmilz offenbar ihre Funktion zurück, als "Falle" Lymphozyten abzufangen (Tab. 9).

3.3. Immunisierte und re-infizierte Mäuse

Aufteilung und Behandlung der Versuchstiere (s. auch Schema 4):

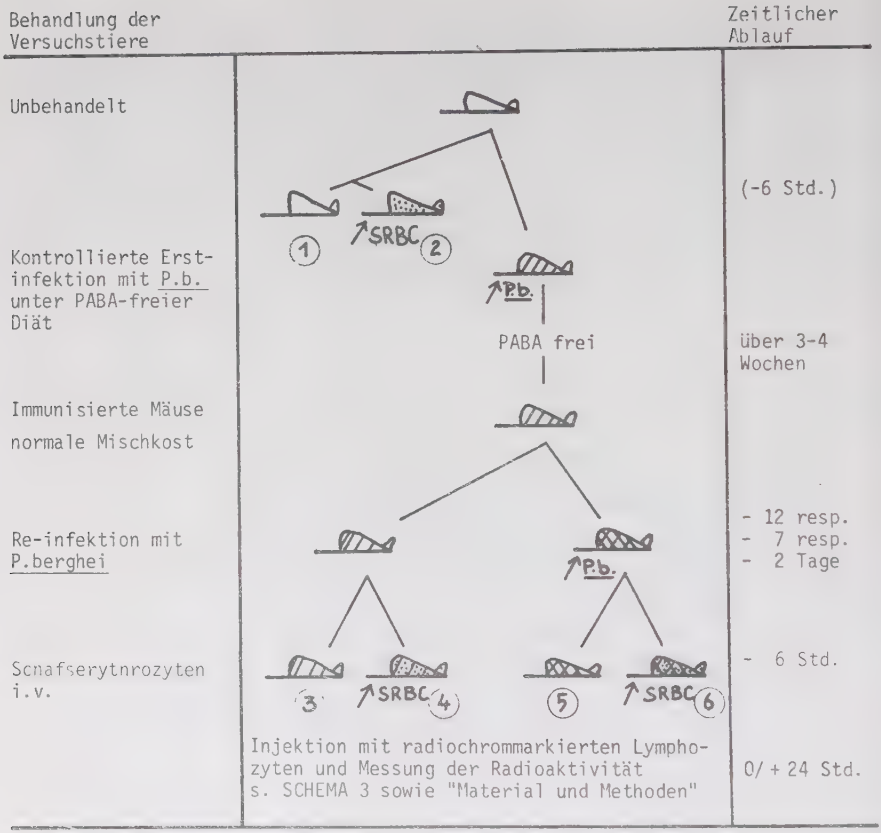
1) normale, unbehandelte Mäuse (Kontrollen)
2) mit Schafserythrozyten stimulierte Mäuse
3) P.berghei-immunisierte Mäuse
4) P.berghei-immunisierte, SRBC-stimulierte Mäuse
5) mit P.berghei re-infizierte Mäuse
   a) 3. Tag post re-infectionem
   b) 8. Tag p. re-inf.
   c) 13. Tag p. re-inf.
6) mit P.berghei re-infizierte, SRBC-stimulierte Mäuse
   a) 3. Tag post re-infectionem
   b) 8. Tag p. re-inf.
   c) 13. Tag p. re-inf.

3.3.1. Normale, unbehandelte Mäuse

dienten den übrigen Gruppen als Kontrollen. Organgewichte und Verteilungsmuster der chrommarkierten Lymphozyten in den lymphatischen Organen entsprechen den unter 3.1.1. berichteten Ergebnissen.

3.3.2. SRBC-stimulierte Mäuse:

Die Versuche bestätigten die entsprechenden Ergebnisse unter Ziffer 3.1.2.



SCHEMA 4. Schema der Versuchsanordnung für Abschnitt 3.3. (Re-infizierte Mäuse)

Legende:
- unbehandelte Mäuse
- nach Infusion von SRBC
- mit P.berghei infizierte Maus
- Maus nach Re-infektion mit P.berghei

P.b. P.berghei
PABA para-Aminobenzoesäure
SRBC Schafserythrozyten

Die Zahlen bezeichnen die Gruppen der Mäuse (s. 3.3.)

Die Gruppen 1 und 2 werden als Kontrollen für die Gruppen 3 - 6 mitgeführt.

3.3.3. P. b e r g h e i - i m m u n i s i e r t e M ä u s e:

Während der kontrollierten Infektion mit P.berghei unter Paraaminobenzoat-freier Diät blieb die Parasitämie bei der überwiegenden Zahl der Versuchstiere unter 5%. Sobald sich im peripheren Blutausstrich keine Parasiten mehr entdecken ließen (meistens vor Beginn der 4. Woche nach der Inokulation), wurden sie mit der üblichen Mischkost ernährt und galten als "immunisiert". Bei 19% der beobachteten Tiere kam es unter der Mischkostdiät zu einem tödlichen Relaps (7 von 36 Versuchstieren).

Verteilungsmuster (Homing) der chrommarkierten Lymphozyten:
In der Milz wurden 29%, in der Leber 3o% der injizierten Lymphozyten entdeckt. Das entspricht einer auf das Doppelte gesteigerten Homing-Kapazität der Milz im Vergleich mit unbehandelten Kontrollen und einer Zunahme der Leberkapazität um ein Drittel.
Die Homing-Rate pro Gewichtseinheit Milz erreicht Werte, die ca. 4o% unter den Messungen bei normalen Tieren liegen (spezifisches Homing, Tab. 11).

3.3.4. P. b e r g h e i - i m m u n i s i e r t e , S R B C - s t i m u l i e r t e M ä u s e

Bei immunisierten Mäusen führt die Injektion von Schafserythrozyten zu einem Trapping von 7o%. Als Folge des persistierenden hohen Ausgangsgewichtes der Milz (o.23 g) ergibt sich aus der Berechnung pro Gewichtseinheit ein "negatives (spezifisches) Trapping" von (-)51% (Tab. 12).
Hingegen ergibt der Vergleich mit unstimulierten, immunisierten Mäusen ("homologes Trapping") einen Anstieg von 18%.

3.3.5. M i t P. b e r g h e i r e - i n f i z i e r t e M ä u s e

Nach der "Booster-Infektion" mit P.berghei läßt sich bei den Versuchstieren in der Regel keine Parasitämie nachweisen. Eine

von 35 Mäusen starb jedoch an einer plötzlich entwickelten Parasitämie von über 7o%. Es ist anzunehmen, daß unter der PABA-freien Ernährung in diesem Fall keine ausreichende Immunisierung stattgefunden hat.

Verteilung der chrommarkierten Lymphozyten: Die in der Milz aufgefundene Radioaktivität entspricht etwa den bei den immunisierten Mäusen gemessenen Werten. Die Re-infektion hatte während des Beobachtungszeitraums von 2 Wochen keine Änderung der Lymphozytenzirkulation zur Milz zur Folge:

3. Tag p. re-inf. 3o.5%
8. Tag p. re-inf. 26.7%
13. Tag p. re-inf. 27.1%

Die in der Gewichtseinheit (o.1 g) der Milz gemessene Radioaktivität ("spezifisches Homing") lag zwar um 1/3 unter der normaler unbehandelter Mäuse, erfuhr jedoch nach der Re-infektion keine Verminderung (Tab. 11).

3.3.6. Mit P. berghei re-infizierte, SRBC-stimulierte Mäuse

Im Anschluß an die Re-infektion mit P.berghei wurde eine SRBC-bedingte Anreicherung von Lymphozyten (Trapping) um 6o% gemessen (3. Tag). Im weiteren Verlauf wurden ebenfalls hohe Trapping-Quoten erzielt (5o% am 8. Tag), die am 13. Tag p. re-inf. sogar auf 75% anstiegen.
Wenn die stimulierten Mäuse mit unstimulierten Mäusen desselben Stadiums der "Boosterinfektion" mit P.berghei verglichen werden, ergibt sich eine SRBC-induzierte Lymphozytenanreicherung in der Milz von 11% am 3. und 8. Tag und in der Folge ein Anstieg auf eine Höhe, wie er bei immunisierten Mäusen vor der Re-infektion gemessen wurde (ca. 18% am 13. Tag; Tab. 12).
Die Fähigkeit der Milz, Lymphozyten aus dem rezirkulierenden Pool zu rekrutieren, bleibt erhalten (s. Tab. 12, "homologes Trapping").

3.4. Histologische Untersuchungen der infizierten und SRBC-injizierten Milzen

Bei Mäusen läßt die weiße Miltpulpa nach der intravenösen Injektion von 5 x 10^8 Schafserythrozyten lichtmikroskopisch keine deutlichen Veränderungen erkennen (Abb. 1o). Sie erscheint um die Zentralarteriolen herum angeordnet. Ein Netz von Retikulumzellen enthält in großer Dichte Lymphozyten. Peripherwärts läßt sich die weniger dicht mit Lymphozyten gefüllte, schmale Marginalzone abgrenzen, die sich von den mit Erythrozyten gefüllten Sinusräumen abhebt.
Am 8. Tag nach der Infektion mit P.berghei beherrschen große Follikel mit deutlich ausgeprägten Keimzentren das Bild (Abb. 11). Die weiße Pulpa erscheint insgesamt aufgelockert. Die Übergänge zwischen Follikelrand, Marginalzone und roter Pulpa sind unscharf (Abb. 12).

Bei der Ratte zeigt die weiße Milzpulpa 1o Tage nach der Infektion mit P.berghei kaum Strukturveränderungen im Vergleich zur Kontrolle (Abb. 13). Follikel mit Keimzentren werden sowohl im normalen wie im infizierten Gewebe entdeckt. Auch im lymphatischen Milzgewebe der Ratte besteht eine Auflockerung der Übergänge zwischen Follikel und roter Pulpa.

Zusammenfassung: Die histologischen Strukturen der weißen Milzpulpa von Mäusen und Ratten ändern sich nach der Infektion mit P.berghei. Die Veränderungen werden gekennzeichnet durch einen Lymphozytenverlust (Ausdünnung) der Randzonen der periarteriolären lymphatischen Scheiden (PALS), der Unschärfe der Kompartimentbegrenzungen und bei den Mäusen durch die Entwicklung von Keimzentren. Bei den verwendeten Versuchstierstämmem führt die Injektion von Schafserythrozyten offenbar nicht zu lichtmikroskopisch erkennbaren Abweichungen des histologischen Bildes.

4. Diskussion

In der vorliegenden Studie wurden Änderungen der Lymphozytenrezirkulation nach der Injektion von Schafserythrozyten (SRBC), sowie während der Plasmodieninfektion in Mäusen und Ratten untersucht.

1.) Mit radioaktivem Chrom markierte Lymphozyten wurden Versuchstieren desselben Inzuchtstammes intravenös injiziert. Die Verteilung der Zellen auf die einzelnen Organe läßt sich dadurch ermitteln, indem die Radioaktivität gemessen wird.

Für Mäuse und für Ratten sind unterschiedliche Verteilungsmuster auf Leber, Milz, Lymphozyten und Blut charakteristisch (Tab. 2 und 6). Über den Milzen von Mäusen und von Ratten wurden durchschnittlich 15% der injizierten Radioaktivität registriert. Die normale Verteilung der Lymphozyten auf die lymphatischen Gewebe des Organismus wird "Homing" genannt. Sie erfährt eine Änderung durch die Applikation eines Antigens: Die intravenöse Injektion von Schafserythrozyten stimuliert die Milz von Mäusen und von Ratten, Lymphozyten in ihrer Wanderung (Rezirkulation) zu hemmen. Das drückt sich in der Messung erhöhter Radioaktivität über dem Organ aus. Die Differenz zum Homing wird "Trapping" genannt und nach folgender Formel berechnet:

$$\frac{\text{stim. Milz (cpm)} - \text{unstim. Milz (cpm)}}{\text{unstim. Milz (cpm)}} \times 10^2$$

= Prozent Trapping

In der stimulierten Mausmilz werden 35 bis 40% mehr Lymphozyten aufgefunden als in den nicht stimulierten Kontrollmilzen. Gleich hohe SRBC-Dosen führen in der Rattenmilz zu einem Trapping von 17%.

Die antigeninduzierte Lymphozytenretention in der Milz (Trapping) von Mäusen bestätigt die Ergebnisse von Zatz u. Lance (1971). Die Ursache für die relativ geringe Trappingaktivität der Rattenmilz könnte die unterschiedliche Zusammensetzung des rezir-

kulierenden Lymphozytenpools bei Ratten und Mäusen sein. Wegen der guten Reproduzierbarkeit des Trapping-Phänomens in den Vorversuchen wurden bei den vorliegenden Untersuchungen zur Stimulierung der Milz Schafserythrozyten verwandt. Zur Markierung mit ^{51}Chrom und anschließenden i.v. Injektion in die Versuchstiere wurden Lymphozyten aus Lymphknoten syngenischer Spender gewonnen ("lymph node cells"). Sie reichern sich in der Empfängermilz in einem höheren Prozentsatz an als aus Milzen gewonnene lymphoide Zellen (Vorversuche mit Ratten). Eine mögliche Erklärung für diese Beobachtung bietet die unterschiedliche Zusammensetzung der Lymphozytenpopulationen in den Lymphknoten und der Milz: Lymphknoten enthalten überwiegend (rezirkulierende) T-Zellen, während die Milz T- und B-Lymphozyten enthält (vergl. Zatz u. Lance, 197o).

Ca. 24 Stunden nach der Injektion von Schafserythrozyten wurde bei den Mäusen eine Erhöhung des Milzgewichtes um fast 2o% festgestellt. Es wird vermutet, daß der Gewichtsanstieg z.T. auf der "Speicherung" der Erythrozyten und z.T. auf der Retention von Lymphozyten in der Milz beruht. Bei den Ratten konnte keine Gewichtszunahme der Milz festgestellt werden.

Die Lymphozytenverteilung in unstimulierten Tieren (Homing), sowie die SRBC-induzierte Lymphozytenanreicherung in der Milz (Trapping) konnten in allen Versuchen wiederholt werden. Möglicherweise bedingt durch individuelle Schwankungen der Milzgröße, unterlag die ermittelte Lymphozytenretention relativ großen inter- wie intraexperimentellen Schwankungen.

Der genaue Mechanismus des Trapping-Phänomens konnte bisher nicht geklärt werden. Nicht jedes Antigen ist geeignet, ein Trapping zu induzieren. Aus einer Serie von Antigenen verschiedener Stoffklassen, die an C3H-Mäusen ausgetestet wurden, zogen Frost u. Lance (1974) den Schluß, daß großmolekulare, suspendierte ("particulate") Antigene regelmäßig eine Lymphozytenanreicherung im lymphatischen Gewebe bewirken. Ähnliches gelte für Latex-, Silicon- und Kohlepartikel. Jedoch seien sog. schwache Immunogene (wie z.B. lösliche Proteine) nicht in der Lage, in

"jungfräulichen" Mäusen eine Lymphozytenretention auszulösen. Aufgrund von Experimenten mit immunsuppressiv behandelten Ratten hatten die Autoren geschlossen, daß nicht Lymphozyten, sondern Makrophagen für das "Zuschnappen der Lymphozytenfalle" verantwortlich gemacht werden müßten (Frost u. Lance, 1974). Hingegen wiesen Zatz u. Gershon (1974) eine aktive Beteiligung von T-Lymphozyten bei der Lymphozytenretention nach.
Eine immunologische Sensibilisierung mit Schafserythrozyten erlaubt anscheinend eine Verminderung der Trapping induzierenden Dosis um eine Zehnerpotenz (Zatz u. Lance, 1971). Eigenen Vorversuchen zufolge führt eine Erhöhung bzw. Erniedrigung der SRBC-Dosis um eine bis zwei Zehnerpotenzen nur zu geringfügigen Änderungen der Trappingantwort. Es erscheint daher fraglich, ob die Empfindlichkeit der von Zatz u. Lance (1971) angewandten Methode ausreicht, den möglicherweise vorhandenen "booster effect" festzustellen.

Die Retention injizierter markierter Lymphozyten erreicht ihr Maximum ein bis zwei Tage nach der Antigenproliferation. Sie geht somit einer antigenstimulierten Zellproliferation in T- und B-Zell-abhängigen Bereichen der weißen Milzpulpa voraus. Zahlenmäßige Überlegungen schließen aus, daß es sich bei den "abgefangenen" Lymphozyten einzig um eine selektive Entfernung spezifischer Zellen ("memory cells") aus dem Pool rezirkulierender Lymphozyten handelt, welche ebenfalls beobachtet wurde (Emeson u. Thursh, 1974). Ein Trapping von 38% (s. Tab. 4) entspricht ca. 6% der injizierten (^{51}CrLy). Andererseits schwankt die Häufigkeit von B- oder T-Zellen nicht sensibilisierter Mäu- die radioaktiv markiertes Antigen binden, um die Größenordnung von einer bindenden Zelle pro 10^3 bis 10^4 Lymphozyten (Marchalonis, 1974).
Offenbar bewirkt die Stimulation des Versuchstieres mit dem geeigneten Antigen zweierlei: einen unspezifischen, hemmenden Effekt auf die Lymphozytenwanderung durch die betroffenen lymphatischen Organe, sowie eine spezifische Selektion antigensensitiver Lymphozyten ("memory cells") aus der rezirkulierenden

Population (Sprent, Miller u. Mitchell, 1971; Ford, 1972; s. auch Schema 2).

2.) Die infizierten Versuchstiere entwickeln unterschiedlich hohe Parasitämien. Die Milz nimmt an Größe und Gewicht in individuell unterschiedlichem Ausmaß zu. Die Homing-Kapazität für rezirkulierende Lymphozyten unterliegt infektionsbedingten Änderungen. Die Berechnung der radioaktiven Impulse (cpm) pro Gewichtseinheit (0.1 g Gewebe) läßt auch ohne aufwendige Histometrie Rückschlüsse auf die Gewebsverschiebungen zu. Auch bei nicht infizierten Versuchstieren werden größere Gewichtsdifferenzen gefunden. Exaktes Wiegen der Milzen und die Umrechnung der Lymphozytenzahlen pro Gewichtseinheit helfen u.U. fehlerhafte Schlüsse bei der Interpretation von Homing- und Trappingresultaten vermeiden.
Bei den Mäusen nimmt die Zahl "heimkehrender" Lymphozyten in der Milz im Anfangsstadium der Infektion nicht in demselben Maße zu, wie es der Gewichtsanstieg des Organs vermuten ließe. Die Gewebszunahme in der Milz wird zum größeren Teil der extramedullären Erythropoese zugeschrieben. Da im weiteren Verlauf der Infektion pro Milz deutlich weniger Lymphozyten aufgefunden werden, muß die Erklärung in einer Funktionseinschränkung der lymphatischen Gewebskomponente gesucht werden. Ca. zwei Wochen nach der Infektion mit P.berghei enthält das Milzgewebe pro Gewichtseinheit kaum mehr Lymphozyten als das periphere Blut, so als durchströmten die rezirkulierenden Lymphozyten die weiße Milzpulpa unter Verzicht auf ihre spezifischen Bahnen. Diese Beobachtungen sind, wenn auch aus ganz anderen Gründen, den Befunden mit hitzegetöteten Lymphozyten ähnlich (Bainbridge, Brent u. Gowland, 1966).

Die Mäuse scheinen in der Frühphase der Infektion zu einer erhöhten Lymphozytenanreicherung stimulierbar zu sein. Wie mit der Umrechnung auf eine Gewichtseinheit gezeigt wurde ("spezifisches Trapping"), ist die Anreicherung von Lymphozyten bereits in diesem Stadium geringer als bei gesunden Tieren. Schon in der nicht mit SRBC stimulierten Milz infizierter Mäuse finden

sich weniger chrommarkierte Lymphozyten als bei den gesunden Kontrollmäusen. Um eine Aussage über eine dennoch vorhandene antigenbedingte Lymphozytenretention in der infizierten Milz zu ermöglichen, wurde der Begriff "homologes Trapping" gewählt: P.berghei infizierte, mit Schafserythrozyten stimulierte Milzen werden mit nicht stimulierten Milzen desselben Infektionsstadiums verglichen (Tab. 4,5,8,9 und 12). Bei den Mäusen nimmt die Fähigkeit zur Lymphozytenretention ("homologes Trapping") schon zu Beginn der Infektion ab und erlischt in der zweiten Woche nach der Infektion.

Zusammenfassend ergibt sich, daß die Milz einer P.berghei infizierten Maus parallel zum Anstieg der Parasitämie trotz Größenzunahme weniger Lymphozyten enthält. Die Injektion von SRBC führt zu Beginn der Infektion noch zu einer (geringen) Lymphozytenanreicherung, die sich im weiteren Infektionsverlauf nicht mehr hervorrufen läßt. Der Verlust der Fähigkeit zum Homing und zum Trapping hat seine Ursache offenbar in funktionellen Störungen des lymphatischen Gewebes der Milz.

3.) Ein anderes Bild bieten die Versuche mit P.berghei infizierten Ratten. Der Anstieg der Parasitämie geht einher mit einer Zunahme der Lymphozyten in der Milz. Das auf eine Gewichtseinheit bezogene Homing des um ein Mehrfaches vergrößerten Organs ist dabei vermindert. Mit dem Rückgang der Parasitämie und der Splenomegalie "kehren" wieder mehr Lymphozyten "heim" (Tab. 7). In diesem Stadium (23. Tag) kommt es offenbar zu einer Reaktivierung des Trappingmechanismus (Tab. 9, "homologes Trapping").
Hierbei scheint die Rattenmilz weniger stark destruiert zu sein als die der Maus (s. auch Abb. 12 und 14). Es wird angenommen, daß auf der einen Seite die Zunahme des Milzgewichtes nicht nur durch die extramedulläre Erythropoese bedingt ist, sondern auch durch die Proliferation des lymphatischen Milzgewebes. Andererseits wird die weiße Pulpa selbst vorübergehend funktionell beeinträchtigt.

4.) Zusätzlichen Aufschluß geben die Ergebnisse der Untersuchungen an immunisierten Mäusen. Mit Hilfe einer Vitaminmangelkost (Milchpulver ohne p-Aminobenzoesäure) wird eine P.berghei-Infektion soweit abgeschwächt, daß die meisten Mäuse spontan geheilt werden. Die Parasitämie überschreitet nur bei wenigen Mäusen 5%. Eine zweite Infektion mit derselben Dosis P.berghei ruft bei der Mehrzahl der Versuchstiere keine im peripheren Blut nachweisbare Parasitämie hervor. Paraaminobenzoesäure (PABA) ist ein Stoffwechselprodukt in der Synthese der Folsäure und stellt für die Plasmodien einen notwendigen Wuchsstoff dar. Sein Mangel verhindert die Kernteilung der erythrozytären Stadien (Maegraith, Deegan u. Jones, 1952; Jakobi u. Kretschmar, 1962; Jerusalem u. Kretschmar, 1967). Die verzögerte Plasmodienvermehrung unter der Vitaminmangeldiät erlaubt dem Organismus des Versuchstieres offenbar die rechtzeitige und wirkungsvolle Aktivierung des Immunsystems und gewährt einen ausreichenden immunologischen Schutz ("Prämunition") gegen eine erneute Infektion.
Der Relaps nach dem Absetzen der Mangeldiät wird als Frührezidiv gedeutet; diese Mäuse waren nicht ausreichend immunisiert. Möglicherweise hätten sie bei der Fortsetzung der Mangeldiät überlebt.
Die Milzen der immunisierten Tiere bleiben nach überstandener Infektion und während der zweiten Inokulationsperiode etwa um das Dreifache der Norm vergrößert (Tab. 1o). Auffälligerweise verringert sich das Milzgewicht sogar geringfügig bis zum 13. Tag nach der Re-infektion.
Die Homing-Kapazität der Milz ist bei den immunisierten Mäusen auf das Doppelte der Norm erhöht; pro Gewichtseinheit wurde jedoch eine verminderte Lymphozytenzahl registriert. Die re-infizierte Milz der Maus bleibt im Gegensatz zur erstinfizierten Maus bei allen Versuchen mit SRBC stimulierbar.
Homing und Trapping der Milz lassen eine Abhängigkeit von der Immunitätslage des infizierten Versuchstieres erkennen. Andererseits ist anzunehmen, daß die Rezirkulation der Lymphozyten durch die Milz und die Fähigkeit zur Lymphozytenrekrutierung

aus der rezirkulierenden Zellpopulation eine Voraussetzung (von mehreren) ist für die Erhaltung der immunologischen Abwehr. Die Zerstörung der Retentionsfähigkeit der Milz ist ein Indiz für den letalen Ausgang (Bitzan u. Spira, 1978), ihre Wiedergewinnung dagegen für die Überwindung der Infektion (s. Abb. 9).
Eine methodische Schwierigkeit behindert die Beurteilung der an Ratten erzielten Resultate. Da ein beträchtlicher Teil der infizierten Ratten in der 3. Woche nach der Infektion stirbt, läßt sich am 13. Tag der Infektion oftmals nicht übersehen, ob das im Experiment verwendete Tier den weiteren Verlauf der Infektion überlebt hätte. Eine Aufgliederung in "todgeweihte" resp. überlebende Ratten würde zu einem Auseinanderscheren der Trapping-Kurve führen: Erlöschen der Lymphozytenrezirkulationsfähigkeit (wie bei erstinfizierten Mäusen) auf der einen Seite und ein Anstieg der Trapping-Kurve nach der Depression um den Gipfelpunkt der Parasitämie auf der anderen Seite (eher vergleichbar mit den re-infizierten Mäusen).

Zusammenfassend wird bei den infizierten LEWIS-Ratten und bei den immunisierten Mäusen zwar eine Verminderung der rezirkulierenden Lymphozyten in der Milz beobachtet; zwei Wochen nach der Infektion resp. Re-infektion steigt die Zahl der Lymphozyten jedoch wieder an.
Das "homologe Trapping" bleibt bei den immunisierten Mäusen nach der Re-infektion immer auslösbar; bei den erstinfizierten Ratten wird sein Mechanismus vorübergehend ausgeschaltet, beginnt sich aber drei Wochen p. inf. wieder zu normalisieren.

5.) Im folgenden werden die in den vorliegenden Untersuchungen beschriebenen Befunde im Zusammenhang mit anderen Beispielen plasmodienbedingter Immunsuppression diskutiert.
Plasmodien unterdrücken die humorale Immunantwort. Salaman et al. (1969) prüften die Antikörperentwicklung auf Schafserythrozyten während der Plasmodieninfektion. Sie bleibt aus (s. ebenfalls Barker, 1971; Greenwood, Playfair u. Torrigiani, 1971). Auch die Anzahl IgM-produzierender Zellen in der Milz von Ratten und Mäusen sinkt mit steigender Parasitämie stark

ab (Salaman u. Wederburn, 197o; Golenser, Shmuel, Jacobson u. Spira, 1974). Was die Beinträchtigung der zellulären Immunantwort durch die Plasmodieninfektion angeht, finden sich bei den genannten Autoren z.T. widersprüchliche Behauptungen. Während des Höhepunktes der Parasitämie gelang es Golenser et al. (1975) nicht mehr, lymphoide Zellen der Rattenmilz mit dem T-Zell-Mitogen Phythämagglutinin (PHA) zu stimulieren, wahrscheinlich infolge der P.berghei-bedingten Reduktion der T-Lymphozyten. Die Stimulierbarkeit kehre jedoch mit dem Verschwinden der Parasiten aus dem peripheren Blut zu den Ausgangswerten zurück. Zu vergleichbaren Ergebnissen kamen Jayawardena et al. (1975), als sie die Stimulierbarkeit von T-Lymphozyten in tödlich verlaufenden Infektionen mit P.berghei berghei und in leichten Infektionen mit P.berghei yoelii, die spontan heilen, untersuchten: Die Stimulierbarkeit der Lymphozyten aus der Milz des spontan genesenden Tieres (Yoelii-Infektion) mit PHA sei herabgesetzt. Diese Depression werde "ausgeglichen" durch die Zunahme der Lymphozytenzahl in der vergrößerten Milz. Die tödlich verlaufende Infektion hingegen habe zur absoluten Verminderung desjenigen Lymphozytenanteils in der Milz geführt, der sich durch Plasmodiumantigen oder PHA zur Zellteilung stimulieren lasse. Auch bei infizierten Menschen finden sich Beispiele für eine Immunsuppression durch die Plasmodieninfektion:
Kinder aus Gebieten mit endemischer Malaria bildeten nach Tetanusvakzinationen weniger Antikörper als gesunde Kontrollgruppen (McGregor u. Barr, 1962; Greenwood, Playfair u. Torrigiani, 197o). Mit PHA ließen sich Lymphozyten aus dem Blut malariakranker Kinder in Nigeria nur geringfügig stimulieren (Osunkoya, Williams u. Reddy, 1972).

Neben der Milz und der Leber wurden auch Lymphknoten, Lungen und Nieren auf ihren Gehalt an radioaktiv markierten Lymphozyten geprüft (unveröffentlichte Untersuchungen). Anreicherungen oder infektionsbedingte Verminderungen konnten nicht beobachtet werden. Offenbar wird bevorzugt die Milz bzw. dort befindliche Strukturen in ihrer immunologischen Funktion eingeschränkt.

Manche Autoren machen für die Immunsuppression die infektionsbedingte Dysfunktion der Makrophagen (besonders in der Milz ?) verantwortlich. Die Aufnahme und Verarbeitung ("processing") des nach der Infektion applizierten Antigens und/oder der Transport von Antigenderterminanten zu den immunkompetenten Zellen sei gestört (Greenwood, Brown, de Jesus u. Holborow, 1971; Loose, Cooke u. di Luzio, 1972; Loose u. di Luzio, 1976). Auch die Fähigkeit der Makrophagen, kolloidale Kohle zu phagozytieren, sei aus demselben Grunde herabgesetzt (Cantrell, Elko u. Hopff, 1970).
Möglicherweise beruht die Dysfunktion der Makrophagen auf der Antigenüberladung mit Plasmodien, Zelldetritus usw. Auch eine Steigerung der Phagozytoseleistung gegenüber plasmoidalem Antigen (Zuckerman, Spira u. Ron, 1975) und eine paradoxe Erhöhung der Immunreaktivität (Jerusalem, 1969) wurden beschrieben. Makrophagen aus frischen Milzpräparaten infektiöser Mäuse zeigen in vitro eine Änderung des Wachstumsverhaltens (Mungyerova u. Jerusalem, 1966).

6.) Die Verweildauer der Lymphozyten und die Induktion einer Lymphozytenretention in den lymphatischen Organen sind, wie jede immunologische Reaktion, von der Interaktion der Zellen des lymphatischen Systems und des RHS in einer histologisch geordneten Mikroumgebung abhängig. Die in der vorliegenden Untersuchung beschriebenen Veränderungen der histologischen Strukturen der weißen Milzpulpa von Mäusen und Ratten aufgrund der Plasmodieninfektion führen offenbar zur Destruktion dieser Mikroumgebung. Nach einer Modellvorstellung (Mitchell, 1973) folgen die rezirkulierenden Lymphozyten in der Milz spezifischen Strukturen ("Bahnen"). Daher ist anzunehmen, daß die o.g. Veränderungen der Funktion und der Oberflächenmembran der Makrophagen, Histiozyten und sessilen Zellen in der Nachbarschaft dieser Bahnen die Rezirkulation der Lymphozyten und ihre immunologische Aktivität beeinträchtigen.
Die Gewebsdesintegration der Mausmilz betrifft auch die Marginalzonen (Abb. 11, 12 u. 14). Ihre Unversehrheit wiederum wird

als Bedingung für die Passage von Lymphozyten oder Antigen in die weiße Pulpa gefordert (Hunter, Wissler u. Fitch, 1968). Wahrscheinlich sind alle genannten Faktoren an der Depression von Homing und Trapping in den infizierten Versuchstieren beteiligt.

Zusammenfassend ist eine Auflockerung der weißen Pulpastruktur und der Übergänge zu Marginalzone und roter Pulpa, eine Reduktion der Mantelzone, sowie bei den Mäusen ein Verschwinden der Marginalzone in der zweiten Woche nach der Infektion lichtmikroskopisch festzustellen (Abb. 11, 12 u. 14). Die Befunde sind gut in Einklang zu bringen mit histologischen Untersuchungen der Milz bei P.berghei-infizierten und chemotherapeutisch behandelten Mäusen (freundlicherweise überlassen von Prof. Jerusalem, Nijmegen). Aus ihnen ergibt sich, daß sich die Retikulinfaserstruktur um die zentralen Arteriolen auflöst. Während der Heilungsphase bilden sich Mantelzone und Marginalzone wieder aus. Das macht die Wiederherstellung der Homing- und Trappingkapazität bei immunisierten Mäusen verständlich.
Weitere Untersuchungen mit speziellen Methoden (Histometrie, Spezialfärbungen, Autoradiographie) sind notwendig, ehe eine sichere Aussage über die morphologischen Äquivalente der beobachteten Phänomene möglich sein wird.

5. Zusammenfassung

In der vorliegenden Studie wurde die Verteilung radiochrommarkierter Lymphozyten auf die Milz, Leber, Lymphknoten und das Blut in P.berghei - infizierten Mäusen und Ratten untersucht, sowie Änderungen des Verteilungsmusters nach der Stimulation der Versuchstiere mit Schafserythrozyten (SRBC).

1.) Die Lokalisation intravenös injizierter Lymphozyten in der Mäusemilz nimmt während der Infektion auf 1/25 des Ausgangswertes ab (pro Gewichtseinheit der Milz). Die SRBC-bedingte Lymphozytenretention ("Trapping") in der Milz kommt zum Erliegen. Die Zerstörung der Retentionsfähigkeit der Milz wird als Indiz für die plasmodienbedingte Immunsuppression gewertet.

2.) Die intravenöse Stimulation mit SRBC führt auch bei Ratten zu einer Lymphozytenanreicherung in der Milz. Die Retention von Lymphozyten erlischt während des Gipfelpunktes der Parasitämie. Drei Wochen nach der Infektion gewinnt die Milz ihre Trapping-Funktion offenbar zurück.

3.) Bei Mäusen, die durch eine kontrollierte P.berghei - Infektion immunisiert worden sind, bleibt die Fähigkeit der Milz zur SRBC-bedingten Lymphozytenretention nach einer Re-infektion erhalten.

4.) Aufgrund der histologischen Veränderungen in den Milzen infizierter Mäuse und Ratten wird vermutet, daß die Änderung der Lymphozytenverteilung und -retention in dem Organ u.a. durch die Zerstörung der Mikrostruktur der weißen Milzpulpa herbeigeführt wird. Bei der Regeneration histologischer Strukturen normalisiert sich die Fähigkeit der Milz zum Homing und zum Trapping.

Die experimentellen Befunde werden im Zusammenhang mit anderen Beispielen plasmodienbedingter Immunsuppression aus der Literatur diskutiert.

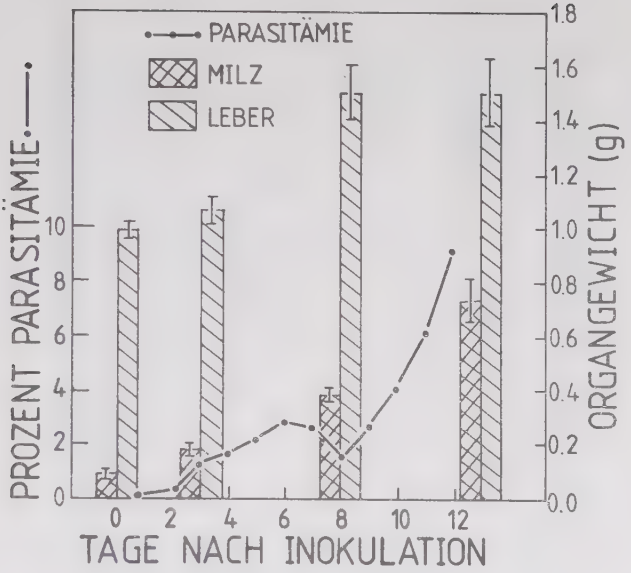


Abb.1: Prozent Parasitämie, sowie Milz- und Lebergewichte von BALB/c-Mäusen nach Infektion mit P.berghei während des Versuchszeitraumes. Der Standardfehler ($s_{\bar{x}}$) der Organgewichte ist eingezeichnet; Größe der Stichproben: s. Tab. 1, Gruppen 1 und 3a - 3c.

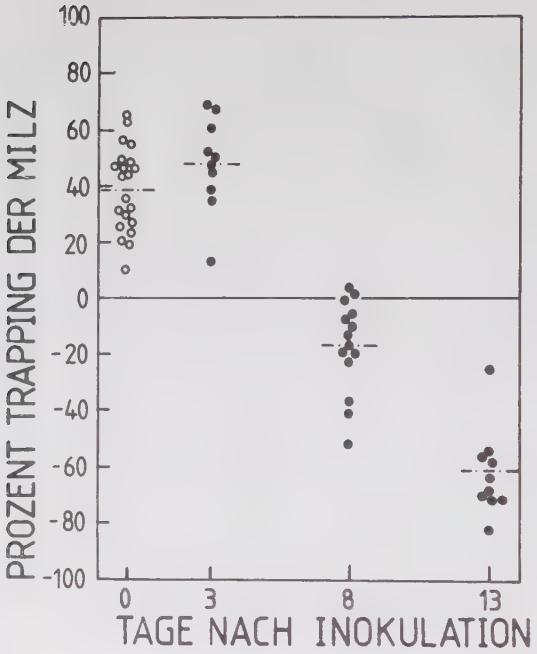


Abb.2: Speicherdifferenz radiochrommarkierter syngenischer Lymphknotenzellen in der Milz, die sich nach Stimulation der Maus mit 5 x 10^8 Schafserythrozyten während verschiedener Stadien der Parasitämie entdecken läßt (Trapping).
Symbole: O nicht infizierte Mäuse
● infizierte Mäuse
—·— Mittelwert
Jeder Punkt entspricht einem stimulierten Versuchstier.
Rechenweg s. "Begriffsklärung"

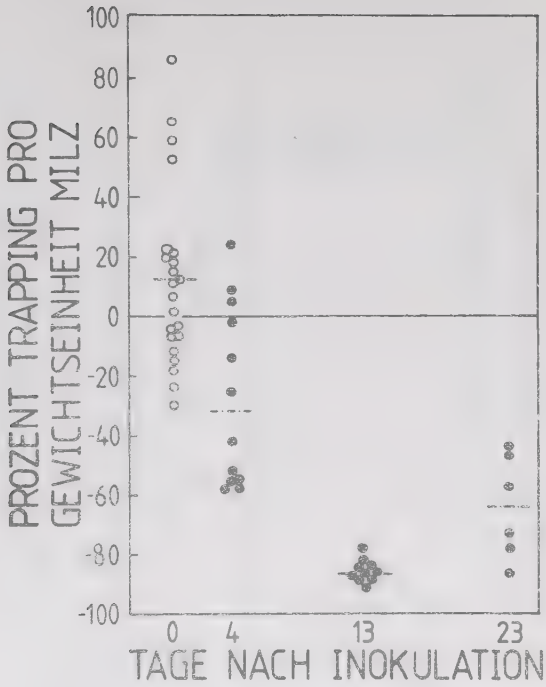


Abb. 3: Speicherdifferenz radiochrommarkierter syngenischer Lymphknotenzellen in 0.1 g Milzgewebe, die sich nach Stimulation der Maus mit 5 x 10^8 Schafserythrozyten während verschiedener Stadien der Parasitämie entdecken läßt (spezifisches Trapping)

Symbole: o nicht infizierte Maus
● infizierte Maus
—·— arithmetischer Mittelwert
Jeder Punkt entspricht einem stimulierten Versuchstier.

Rechenweg s. "Begriffsklärung"

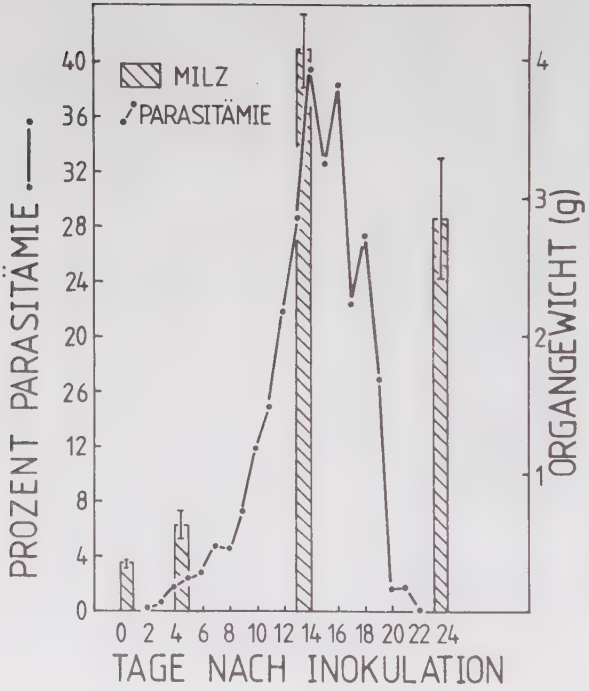


Abb. 4: Prozent Parasitämie und Milzgewichtsveränderungen (arithmetische Mittelwerte) von LEWIS-Ratten nach Infektion mit P.berghei während des Versuchszeitraumes.
Der Standardfehler ($s_{\bar{x}}$) ist eingezeichnet.

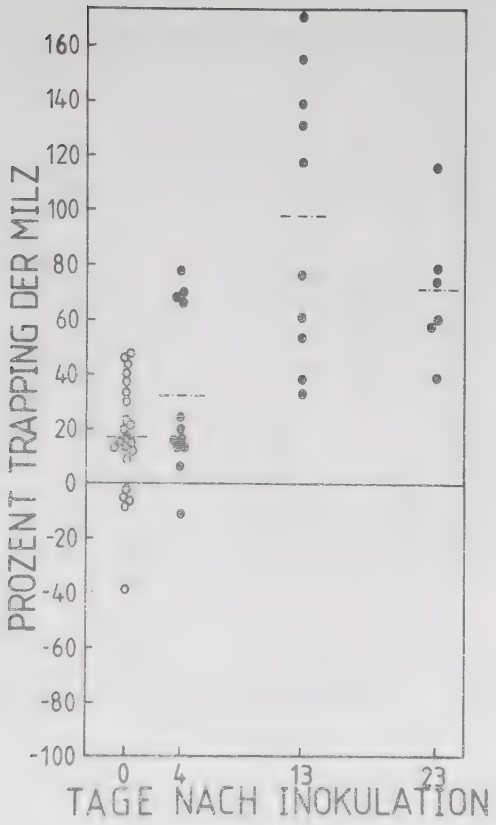


Abb. 5: Speicherdifferenz radiochrommarkierter syngenischer Lymphknotenzellen in der Milz, die sich nach Stimulation der Ratte mit 5 x 10^8 Schafserythrozyten während verschiedener Stadien der Parasitämie entdecken läßt (Trapping).
Symbole: O nicht infizierte Ratte
● infizierte Ratte
—·— arithmetischer Mittelwert
Jeder Punkt entspricht einem stimulierten Versuchstier.

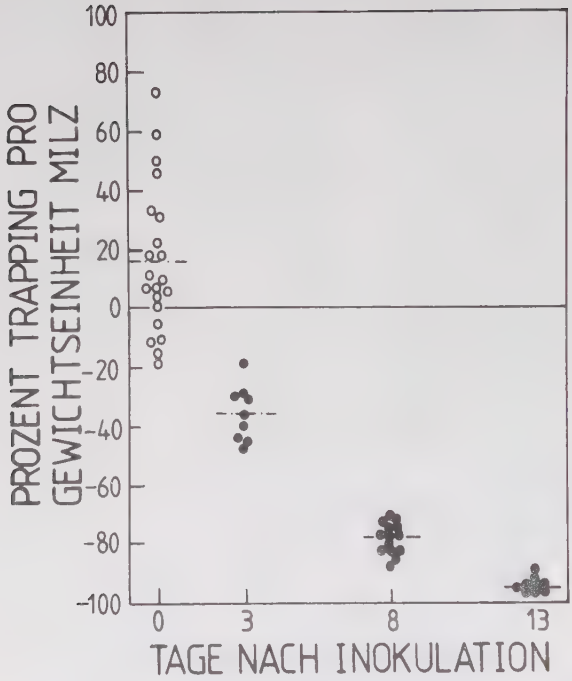


Abb. 6: Speicherdifferenz radiochrommarkierter syngenischer Lymphknotenzellen pro Gewichtseinheit Milz (0.1 g), die sich nach Stimulation der Ratte mit 5 x 10^8 Schafserythrozyten während charakteristischer Stadien der Parasitämie entdecken läßt (spezifisches Trapping).

Symbole: o nicht infizierte Ratte
● infizierte Ratte
—·— arithmetischer Mittelwert
Jeder Punkt entspricht einem stimulierten Versuchstier.

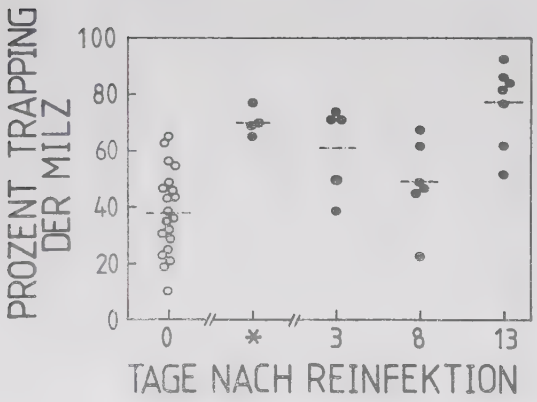


Abb. 7: Speicherdifferenz radiochrommarkierter syngenischer Lymphknotenzellen in der Milz, die sich nach Stimulation der Maus mit 5 x 10^8 Schafserythrozyten während verschiedener Stadien der Infektion entdecken läßt (* = Zustand nach Spontanheilung (immunisiert) und vor Reinfektion).

Symbole: 0 nicht infizierte Mäuse
● immunisierte resp. reinfizierte Mäuse
—·— arithmetischer Mittelwert
Jeder Punkt entspricht einem stimulierten Versuchstier.

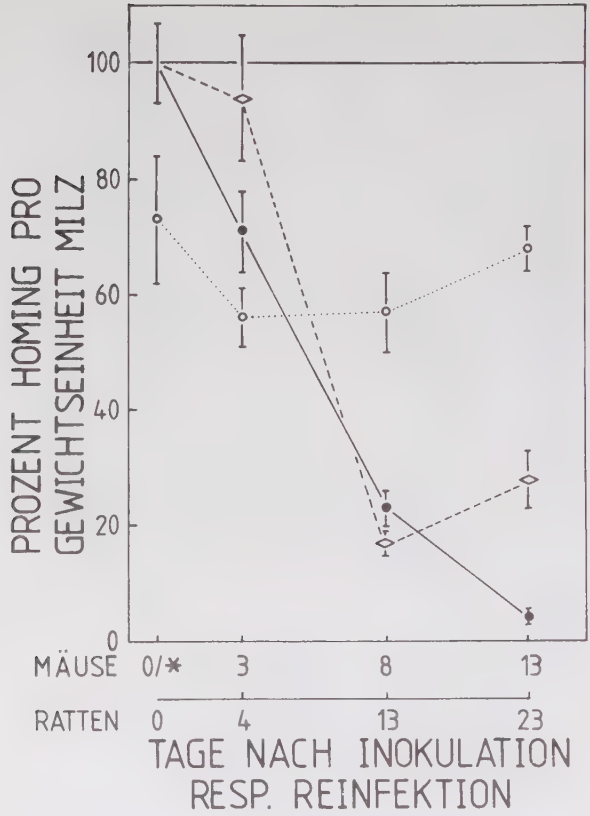


Abb. 8: Synopse der Homing-Veränderungen im Laufe der Plasmodieninfektion:

100% Homing entsprechen der Aktivität radiochrommarkierter Lymphknotenzellen, die ca. 24 Stunden nach der Injektion über der Milz eines normalen Versuchstieres gemessen werden, umgerechnet auf 0.1 g Gewebe (spezifisches Homing).
Der Standardfehler ($s_{\bar{x}}$) ist eingezeichnet.

Symbole: ●——● infizierte Mäuse
o·····o re-infizierte Mäuse
◇---◇ infizierte Ratten

Die Messungen an den erstmalig infizierten und an den re-infizierten Mäusen wurden an identischen Tagen nach Applikation der Plasmodien vorgenommen (* = Zustand vor Re-infektion).

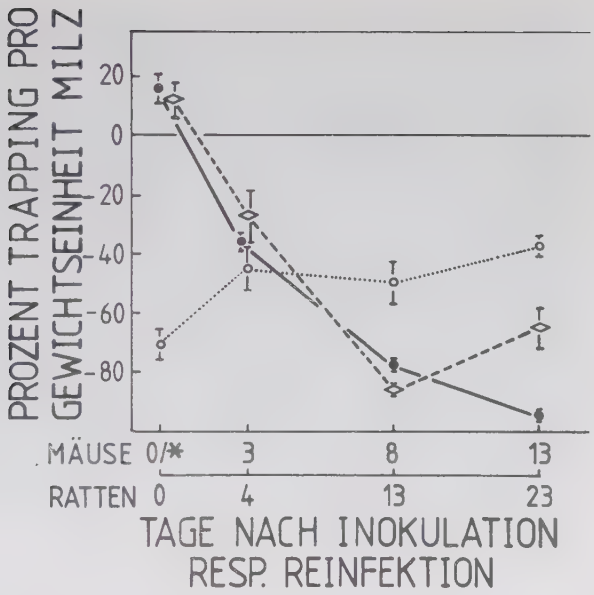


Abb. 9: Synopse der Stimulierbarkeit zum Trapping im Laufe der Plasmodieninfektion:
Speicherdifferenz radiochrommarkierter syngenischer Lymphknotenzellen (arithmetisches Mittel) in 0.1 g Milzgewebe nach Stimulation der Versuchstiere mit Schafserythrozyten (spezifisches Trapping).
Der Standardfehler ($s_{\bar{x}}$) ist eingezeichnet.

Symbole: ●—● erstmalig infizierte Mäuse
○·····○ re-infizierte Mäuse
◇---◇ erstmalig infizierte Ratten

Die Messungen an den erstmalig infizierten und an den re-infizierten Mäusen wurden an identischen Tagen nach Applikation der Plasmodien vorgenommen (* = Zustand vor Re-infektion).

Abb. 10: Milz (Maus), 30 Stunden nach Applikation von 5 x 10^8 Schafserythrozyten i.v. (25 X)

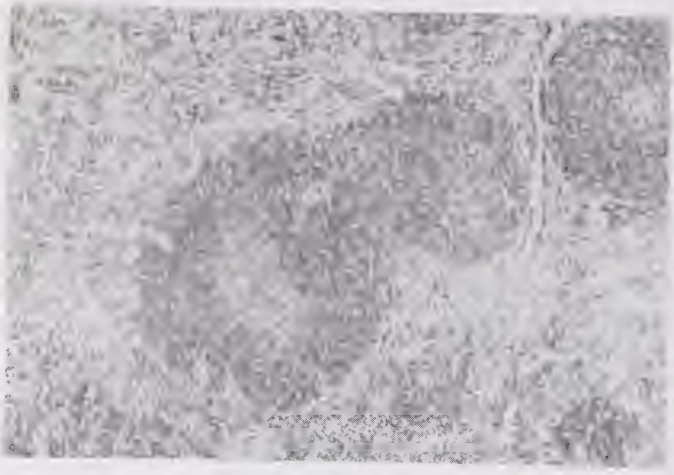


Abb. 11: Milz (Maus), 8 Tage nach Inokulation mit P.berghei, ca. 5 - 6 % Parasitämie (10 X)

Abb. 12: Milz (Maus), 8 Tage nach Inokulation mit P.berghei (Dasselbe Tier wie Abb. 11; 25 X)

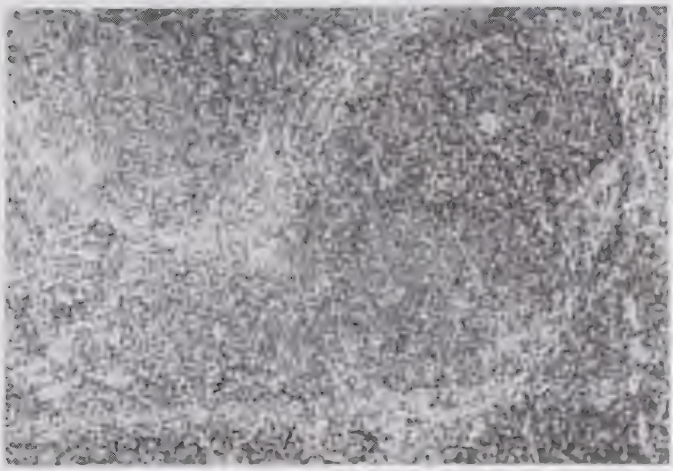


Abb. 13: Normale Milz (Ratte; 25 X)

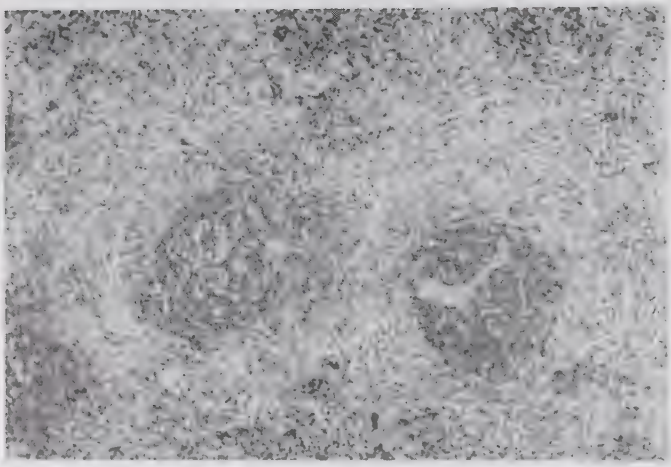


Abb. 14: Milz (Ratte), 1o Tage nach Inokulation mit P.berghei und 3o Stunden nach Stimulation mit 5 x 10^8 Schafserythrozyten i.v., ca. 8% Parasitämie (10 X)

TABELLE 1 a

Wirkung von Schafserythrozyten (SRBC) auf Milz- und Lebergewicht und auf die Organindices von Mäusen während des Infektionsverlauf mit P.berghei .

A) Milz

Behandlung der Mäuse Gruppe[a]	n	Gewicht (g)[b]	Differenz (%)[c]	Index[d]	Differenz (%)[c]
Gruppe 1	33	0.09±0.00		5.2±0.2	
Gruppe 2	22	0.11±0.00	22.2	6.2±0.3	19.2
Gruppe 3a 3. Tag p.i.	14	0.18±0.01		10.2±0.4	
Gruppe 4a 3. Tag p.i.	9	0.21±0.01	16.2	11.3±0.6	10.1
Gruppe 3b 8. Tag p.i.	10	0.38±0.02		21.5±1.1	
Gruppe 4b 8. Tag p.i.	14	0.41±0.02	7.9	22.3±0.8	3.7
Gruppe 3c 13. Tag p.i.	7	0.73±0.08		43.4±1.9	
Gruppe 4c 13. Tag p.i.	1o	0.75±0.03	2.7	47.2±2.1	8.8

[a] Gruppenbeschreibung s. 3.1.

[b] Die Werte verstehen sich als arithmetische Mittelwerte ± Standardfehler ($s_{\bar{x}}$)

[c] Im Vergleich zur darüber aufgeführten, nicht mit SRBC stimulierten Gruppe

[d] Der Organindex ist berechnet als Organgewicht : Körpergewicht, multipliziert mit dem Faktor 10^3.

TABELLE 1 b

Wirkung von Schafserythrozyten (SRBC) auf Milz- und Lebergewicht und auf die Organindices von Mäusen während des Infektionsverlaufs mit P.berghei

B) Leber

Behandlung der Mäuse Gruppe[a]	n	Gewicht (g)[b]	Differenz (%)[c]	Index[d]	Differenz (%)[c]
Gruppe 1	33	0.99±0.04		55.6±1.2	
Gruppe 2	22	1.08±0.04	+9.1	58.6±1.1	+5.4
Gruppe 3a 3. Tag p.i.	14	1.06±0.05		59.2±1.1	
Gruppe 4a 3. Tag p.i.	9	1.16±0.06	+9.4	62.4±2.1	+5.4
Gruppe 3b 8. Tag p.i.	1o	1.50±0.10		85.8±2.6	
Gruppe 4b 8. Tag p.i.	14	1.50±0.07	0.0	79.6±2.4	-7.2
Gruppe 3c 13. Tag p.i.	7	1.50±0.13		88.5±1.6	
Gruppe 4c 13. Tag p.i.	1o	1.47±0.05	0.0	91.6±1.7	+3.0

[a] Gruppenbeschreibung s. 3.1.

[b] Die Werte verstehen sich als arithmetische Mittelwerte ± Standardfehler ($s_{\bar{x}}$)

[c] Im Vergleich zur darüber aufgeführten Gruppe

[d] Der Organindex ist berechnet als Organgewicht : Körpergewicht, multipliziert mit dem Faktor 10^3.

TABELLE 2: Verteilungsmuster der radiochrommarkierten Lymphozyten (^{51}CrLy) auf Milz und Leber normaler und infizierter Mäuse (Homing)

Behandlung der Mäuse Gruppe[a]	n	Milz: Aufgefundene (^{51}CrLy) in Prozent[b] ($\pm s_{\bar{x}}$)	Milz: Differenz vom Normalwert[c] (%)	Leber: Aufgefundene (^{51}CrLy) in Prozent[b] ($s_{\bar{x}}$)	Leber: Differenz vom Normalwert[c] (%)
Gruppe 1					
normal	20	15.2±1.0		24.8±1.3	
Gruppe 3					
3a 3. Tag p.i.	14	2o.3±1.5	33.9	21.4±2.6	-13.7
3b 8. Tag p.i.	10	13.9±1.5	-8.6	31.2±2.7	+25.8
3c 13. Tag p.i.	7	4.7±0.5	-69.1	24.5±3.2	-1.2

[a]Gruppeneinteilung s. 3.1

[b]Prozent der dem Versuchstier i.v. injizierten Radioaktivität

[c]als Normalwert gilt der in Gruppe 1 erhaltene Wert

(^{51} CrLy) = mit ^{51}Cr markierte, syngenische Lymphknotenzellen

TABELLE 3. Prozent der injizierten ^{51}CrLy, umgerechnet auf 0.1 g von Milz, Leber und Blut normaler und infizierter Mäuse (spezifisches Homing)

Behandlung der Mäuse Gruppe[a]	n	Milz % ^{51}CrLy[b] (gemessene Radioakt.)	Milz Differenz vom Normalwert[c]	Leber % ^{51}CrLy[b] (gemessene Radioakt.)	Leber Differenz vom Normalwert[c]	Blut % ^{51}CrLy[b] (gemessene Radioakt.)	Blut Differenz vom Normalwert[c]
Gruppe 1							
normal	2o	16.7±1.2		2.5±0.1		0.3±0.02	
Gruppe 3							
3a							
3. Tag p.i.	14	11.8±1.2	-29.3	2.0±0.3	-19	0.2±0.02	-33.3
3b							
8. Tag p.i.	1o	3.9±0.5	-76.6	2.1±0.2	-14	0.3±0.04	0.0
3c							
13. Tag p.i.	7	0.7±0.1	-96.0	1.6±0.1	-34	0.2±0.07	-33.3

[a] Gruppeneinteilung s. 3.1.

[b] Prozent der dem Versuchstier i.v. injizierten Radioaktivität ($\pm s_{\bar{x}}$)

[c] Als Normalwert gilt der in Gruppe 1 erhaltene Wert (Prozentangabe)

^{51}CrLy = mit ^{51}Cr markierte, syngenische Lymphknotenzellen

TABELLE 4. (^{51}CrLy)-Anstieg in Milz und Leber von Mäusen nach Stimulation mit Schafserythrozyten (Trapping)

Behandlung der Mäuse Gruppen[a]	n	Milz: % Trapping (Vergleichsgruppe: 1)	Milz: % Homologes Trapping[b] (Vergl.gruppe:3)	Leber: % Trapping (Vergleichsgruppe: 1)	Leber: % Homologes Trapping[b] (Vergl.gruppe:3)
Gruppe 2					
normal	22	38.3±3.2	38.3±3.2	-9.5±3.0	-9.5±3.0
Gruppe 4					
4a 3. Tag p.i.	1o	47.2±5.3	9.7±4.5	-28.2±2.0	-12.5±4.3
4b 8. Tag p.i.	14	-16.8±4.5	2.2±6.3	+23.9±5.2	-0.7±5.5
4c 13. Tag p.i.	9	-61.0±5.4	-3.7±14.8	+24.8±7.0	-6.1±7.6

[a] Gruppenbeschreibung s. 3.1.

[b] Als Kontrollen dienten nicht mit SRBC stimulierte Mäuse des gleichen Infektionsstadiums

Die Tabellenwerte verstehen sich als arithmetische Mittelwerte ± Standardfehler ($s_{\bar{x}}$)

(^{51}CrLy) = mit ^{51}Cr markierte, syngenische Lymphknotenzellen

TABELLE 6. (^{51}CrLy)-Anstieg in 0.1 g Milz resp. Leber von Mäusen nach Stimulation mit Schafserythrozyten (spezifisches Trapping)

Behandlung der Mäuse Gruppen[a]	n	Milz % Trapping (Vergleichsgruppe: 1)	Milz % Homologes Trapping[b] (Vergl.gruppe:3)	Leber % Trapping (Vergleichsgruppe: 1)	Leber % Homologes Trapping[b] (Vergl.gruppe:3)
Gruppe 2					
normal -	22	15.7±5.2	15.7±5.2	-17.5±0.3	-17.5±0.3
Gruppe 4					
4a 3. Tag p.i.	9	-35.7±3.2	-1.0±4.6	-36.0±4.1	-17.3±7.3
4b 8. Tag p.i.	14	-78.3±1.4	-7.7±6.1	-14.5±5.2	-6.0±3.9
4c 13. Tag p.i.	1o	-94.5±0.2	-16.0±13.8	-25.0±6.9	-14.1±9.0

[a] Gruppenbeschreibung s. 3.1.

[b] Als Kontrollen dienten nicht mit SRBC stimulierte Mäuse des gleichen Infektionsstadiums

Die Tabellenwerte verstehen sich als arithmetische Mittelwerte ± Standardfehler ($s_{\bar{x}}$)

(^{51}CrLy) = mit ^{51}Cr markierte, syngenische Lymphknotenzellen

TABELLE 6. Verteilungsmuster der radiochrommarkierten Lymphozyten (^{51}CrLy) auf Milz und Leber normaler und infizierter Ratten (Homing)

Behandlung der Ratten Gruppen[a]		Milz: Aufgefundene (^{51}CrLy)[b] in % ± $s_{\bar{x}}$	Milz: Differenz vom Normalwert[c]	Leber: Aufgefundene (^{51}CrLy)[b] in % ± $s_{\bar{x}}$	Leber: Differenz vom Normalwert[c]
Gruppe 1					
normal	24	14.4±0.8		19.5±1.2	
Gruppe 3					
3a 4. Tag p.i.	8	19.5±1.5	+35.4	23.6±1.3	+21.0
3b 13. Tag p.i.	12	24.8±1.2	+72.2	22.9±1.5	+17.4
3c 23. Tag p.i.	6	27.8±2.8	+93.1	16.6±1.2	-14.9

[a] Gruppenbeschreibung s. 3.2.

[b] Prozent der gesamten in das Versuchstier injizierten Radioaktivität

[c] Als Normalwert gilt der in Gruppe 1 erhaltene Wert (Prozentangabe)

(^{51}CrLy) = mit ^{51}Cr markierte, syngenische Lymphknotenzellen

TABELLE 7. Prozent der injizierten (^{51}CrLy), umgerechnet auf 1.0 g Milz und Leber normaler und infizierter Ratten (spezifisches Homing)

Behandlung der Ratten Gruppen[a]	n	Milz: Aufgefundene ^{51}CrLy [b] (%) $\pm s_{\bar{x}}$	Milz: Differenz vom Normalwert[c]	Leber: Aufgefundene ^{51}CrLy [b] (%) $\pm s_{\bar{x}}$	Leber: Differenz vom Normalwert[c]
Gruppe 1					
normal	24	39.2±2.5		3.1±0.2	
Gruppe 3					
3a 4. Tag p.i.	8	36.8±4.5	-6.1	3.9±0.4	+25.8
3b 13. Tag p.i.	12	6.7±0.8	-82.9	3.0±0.3	-3.2
3c 23. Tag p.i.	6	11.0±1.9	-71.9	1.6±0.2	-48.4

[a] Gruppenbeschreibung s. 3.2.

[b] Prozent der gesamten in das Versuchstier injizierten Radioaktivität

[c] Als Normalwert gilt der in Gruppe 1 erhaltene Wert (Prozentangabe)

^{51}CrLy = mit ^{51}Cr markierte, syngenische Lymphknotenzellen

TABELLE 8. ^{51}CrLy-Anstieg in Milz und Leber von Ratten nach Stimulation mit Schafserythrozyten (Trapping)

Behandlung der Ratten Gruppen[a]	n	Milz: % Trapping (Vergleichsgruppe:1)[a]	Milz: % Homologes Trapping[b] (Vergl.gruppe:3)[a]	Leber: % Trapping (Vergleichsgruppe:1)[a]	Leber: % Homologes Trapping[b] (Vergl.gruppe:3)[a]
Gruppe 2					
normal	22	16.7±4.5		-3.0±4.9	
Gruppe 4					
4a 4. Tag p.i.	12	31.9±8.3	+10.3±6.5	-7.5±2.7	-1.1±2.9
4b 13. Tag p.i.	10	97.6±16.1	-3.3±4.4	+8.1±9.1	-2.5±4.2
4c 23. Tag p.i.	6	71.0±10.6	+0.3±6.5	-2.8±4.5	+8.9±8.2

[a] Gruppenbeschreibung s. 3.2.

[b] Als Kontrollen dienten nicht mit SRBC stimulierte Ratten des gleichen Infektionsstadiums

Die Tabellenwerte verstenen sich als arithmetische Mittelwerte ± Standardfehler ($s_{\bar{x}}$).

^{51}CrLy = mit ^{51}Cr markierte, syngenische Lymphknotenzellen

TABELLE 9. ^{51}CrLy-Anstieg in 1.0 g Milz resp. Leber von Ratten nach Stimulation mit Schafserythrozyten (spezifisches Trapping)

Behandlung der Ratten Gruppe[a]	n	Milz % Trapping (Vergleichsgruppe:1)	Milz % Homologes Trapping[b] (Vergl.gruppe:3)	Leber % Trapping (Vergleichsgruppe:3)	Leber % Homologes Trapping[b] (Vergl.gruppe:3)
Gruppe 2					
normal	22	12.4±6.4		-2.0±6.6	-2.0±6.6
Gruppe 4					
4a 4. Tag p.i.	12	-26.8±8.7	-1.5±10.2	-8.7±2.9	-9.6±2.9
4b 13. Tag p.i.	10	-85.9±1.5	-15.5±5.9	-12.4±6.7	-6.3±5.1
4c 23. Tag p.i.	6	-64.4±7.0	+32.8±23.9	-19.0±5.0	+8.9±8.2

[a] Gruppenbeschreibung s. 3.2.

[b] Als Kontrollen dienten nicht mit SRBC stimulierte Ratten des gleichen Infektionsstadiums

Die Tabellenwerte verstehen sich als arithmetische Mittelwerte ± Standardfehler ($s_{\bar{x}}$).

^{51}CrLy = mit ^{51}Cr markierte, syngenische Lymphknotenzellen

TABELLE 1o. Die Wirkung von Schafserythrozyten auf Milz- und Lebergewichte und auf die Organindices von Mäusen nach der Re-infektion mit P.berghei (P.b.)[c]

Behandlung der Mäuse Gruppe[a]	n	Milz Gewicht (g)	Milz Index[b]	Leber Gewicht (g)	Leber Index[b]
Gruppe 1 normal	33	0.09±0.00	5.2±0.2	0.99±0.04	55.6±1.2
Gruppe 2 normal + SRBC	22	0.11±0.00	6.2±0.3	1.08±0.04	58.6±1.1
Gruppe 3 P.b. immunisiert	2	0.23±0.03	10.6±0.6	1.33±0.07	62.5±0.5
Gruppe 4 P.b. immunisiert + SRBC	4	0.31±0.03	15.3±1.5	1.30±0.10	63.5±2.9
Gruppe 5a 3. Tag p. re-inf.	6	0.34±0.02	15.0±1.3	1.46±0.05	64.8±0.9
Gruppe 6a 3. Tag p. re-inf. + SRBC	5	0.29±0.03	13.4±1.11	1.33±0.04	63.3±0.9
Gruppe 5b 8. Tag p. re-inf.	6	0.31±0.04	14.7±1.4	1.25±0.08	60.6±2.0
Gruppe 6b 8. Tag p. re-inf. + SRBC	6	0.29±0.03	14.6±1.2	1.31±0.09	65.4±3.3
Gruppe 5c 13. Tag p. re-inf.	4	0.24±0.04	11.3±0.5	1.26±0.09	58.3±2.4
Gruppe 6c 13. Tag p. re-inf. + SRBC	7	0.29±0.03	13.1±0.37	1.38±0.09	62.0±1.9

[a] Gruppenbeschreibung s. 3.3.

[b] Der Organindex ist berechnet als Organgewicht : Körpergewicht x 10^3

[c] Von der Betrachtung ausgenommen wurden Tiere, die sich bezüglich der Entwicklung der Parasitämie und der Milzschwellung normalen erstinfizierten Tiere so ähnlich verhielten, daß vermutet werden mußte, daß unter der Metabolitenmangelkost keine resistenzerzielende Infektion stattgefunden hatte.

Die Tabellenwerte verstehen sich als arithmetische Mittelwerte ± Standardfehler ($s_{\bar{x}}$)

TABELLE 11. Verteilungsmuster der radiochrommarkierten Lymphozyten (^{51}CrLy) auf Milz und Leber von Mäusen nach der Re-infektion mit P.berghei (P.b.) (Homing)

Behandlung der Mäuse Gruppe[a]	n	Milz		Leber	
		Aufgefundene (^{51}CrLy) in Prozent[b]			
		Homing	spezif. Homing[c]	Homing	spezif. Homing[c]
Gruppe 1					
normal	20	15.2±1.0	16.7±1.2	24.8±1.3	2.5±0.1
Gruppe 3					
P.b. immunisiert	2	29.0±0.9	12.2±1.8	32.1±0.7	2.4±0.2
Gruppe 5					
5a 3. Tag p. re-inf.	6	30.5±1.9	9.3±0.8	25.7±1.9	1.8±0.1
5b 8. Tag p. re-inf.	6	26.7±0.6	9.5±1.2	28.0±1.2	2.3±0.3
5c 13. Tag p. re-inf.	4	27.1±0.7	11.3±0.6	30.5±1.2	2.4±0.1

[a] Gruppenbeschreibung s. 3.3.

[b] Prozent der dem Versuchstier i.v. injizierten Radioaktivität

[c] Spezifisches Homing = Prozent der injizierten ^{51}CrLy, umgerechnet auf 0.1 g Organgewebe

Die Tabellenwerte verstehen sich als arithmetische Mittelwerte ± Standardfehler ($s_{\bar{x}}$)

TABELLE 12. ^{51}CrLy-Anstieg in der M i l z von P.berghei (P.b.)-immunisierten und re-infizierten Mäusen nach Stimulation mit Schafserythrozyten (Trapping)

Behandlung der Mäuse Gruppe[a]	n	T r a p p i n g (Milz) % Trapping (Vergleichsgruppe:1)	% Homologes Trapping[b]	Spezifisches Trapping % Trapping (Vergleichsgruppe:1)	% Homologes Trapping[b]
Gruppe 2					
normal	22	38.3±3.2		15.7±5.2	
Gruppe 4					
P.b. immunisiert	4	70.2±5.7	17.9±1.8[c]	-50.7±4.7	-13.8±8.2[c]
Gruppe 6					
6a 3. Tag p.re-inf.	5	60.7±6.8	10.7±2.1[d]	-45.4±7.4	+38.8±21.6[d]
6b 8. Tag p.re-inf.	6	49.0±6.4	10.7±4.2[d]	-49.7±7.4	+16.0±8.8[d]
6c 13. Tag p.re-inf.	7	76.5±5.5	18.4±5.0[d]	-37.0±3.5	+42.0±16.8[d]

[a] Gruppenbeschreibung s. 3.3.

[b] Als Kontrollen dienten nicht mit SRBC stimulierte Tiere des gleichen Infektionsstadiums

[c] Vergleichsgruppe: 3 (P.berghei-immunisierte Mäuse)

[d] Vergleichsgruppe: 5 (mit P.berghei re-infizierte Mäuse)

Die Tabellenwerte verstehen sich als arithmetische Mittelwerte ± Standardfehler ($s_{\bar{x}}$)

6. Schrifttum

Bainbridge, D.R., L. Brent and G. Gowland: Distribution of allogeneic ^{51}Cr labelled lymphnode cells in mice. Transplantation 4, 138-153 (1966)

Barker, L.R.: Experimental Malaria: Effects upon the immune response to different antigens. Journal of Infectious Diseases 123, 99-101 (1971)

Bitzan, M. and D.T. Spira: Lymphocyte trapping and malaria in Plasmodium-berghei-infected mice. Israel Journal of Medical Sciences 14, 673-681 (1978)

Cantrell, W., E.E. Elko and B.M. Hopff: Plasmodium berghei: Phagocytic hyperactivity of infected rats. Exp. Parasitol. 28, 291-297 (1970)

Corradetti, A. and E. Rigoli: Comportamento dei systemi emopoietico reticulo-endotheliale nel ratto albino a quarto e al settimogiorno di una infezione mortale da Plasmodium berghei. (Zusammenfassung in Englisch) Parassitol. 3, 87 (1961)

Emeson, E.E. and D.R. Thursh: Antigen-induced trapping of immunospecific lymphocytes in the spleen. J.Immunol. 113, 1575-1582 (1974)

Ford, W.L.: The kinetics of lymphocyte migration within the rat spleen. Cell Tissue Kinet. 2, 171 (1969)

Ford, W.L.: The recruitment of recirculating lymphocytes in the antigenically stimulated spleen. Specific and non specific consequences of initiating a secondary antibody response. Clin. exp. Immunol. 12, 243-254 (1972)

Ford, W.L.: Lymphocyte migration and immune responses (review). Progr. Allergy 19, 1-59 (1975)

Frost, P. and E.M. Lance: The cellular origin of the lymphocyte trap.
Immunology 26, 175-186 (1974)

Garnham, P.C.C.: Malaria Parasites and other haemosporidia.
Oxford: Blackwell 1966

Golenser, J., Z. Shmuel, R.L. Jacobson and D.T. Spira: The dynamics of response of rats infected with Plasmodium berghei to SRBC.
J.Protozool. 21 (supp.), 464 (1974)

Golenser, J., D.T. Spira and A. Zuckerman: (^{3}H) Thymidine incorporation by spleen cells of malarious rats.
J.Protozool. 2o (supp.), 531-532 (1973)

Golenser, J., D.T. Spira and A. Zuckerman: Dynamics of Thymidine indorporation by spleen cells from rats infected with Plasmodium berghei.
Clin. exp. Immunol. 22, 364-371 (1975)

Gowans, J.L.: The recirculation of lymphocytes from blood to lymph in the rat.
J. Physiol. 146, 54 (1959)

Gowans, J.L. and E.J. Knight: The route of recirculation of lymphocytes in the rat.
Proc. Roy. Soc. (Biol.) 159, 257-282 (1964)

Greenwood, B.M., A.M. Bradley-Moore, A. Palit and A.D.M. Bryceson: Immunosuppression in children with malaria.
Lancet 1, 169-172 (1972)

Greenwood, B.M., J.C. Brown, D.G. de Jesus and E.J. Holborow: Immunosuppression in murine malaria. II. The effect of reticuloendothelial and germinal centre function.
Clin. exp. Immunol. 9, 345-354 (1971)

Greenwood, B.M., J.H.L. Playfair and G. Torrigiani: Burkitt lymphoma and malaria
Lancet 2, 418 (197o)

Greenwood, B.M., J.H.L. Playfair and G. Torrigiani: Immunosuppression in murine malaria. I. General characteristics. Clin. exp. Immunol. 8, 467-478 (1971)

Hall, J.G. and B. Morris: The immediate effect of antigens on the cell output of a lymphnode. Brit. J. Exp. Path. 46, 45o-454 (1965)

Howard, J.C., S.V. Hunt and J.L. Gowans: Identification of marrow-derived and thymus-derived small lymphocytes in the lymphoid tissue and thoracic duct lymph of normal rats. J. Exp. Med. 135, 2oo (1972)

Hunter, R.L., R.W. Wissler and F.W. Fitch: Studies in the kinetics and radiation sensitivity of dendritic macrophages. In: Lymphatic tissue and germinal centres in immune responses (eds. Fiore-Donati, L. and M.G. Hanna, Jr.), p. 1o1. New York: Plenum Press 1968

Jakobi, K. und W. Kretschmar: Die Milchtherapie der Malariainfektion (Plasmodium berghei) bei der Maus. Z. Tropenmedizin Parasit. 13, 286-3o4 (1962)

Jayawardena, A.N., G.A.T. Targett, E. Leuchars, R.L. Carter, M.J. Doenhoff and A.J.S. Davies: T-cell activation in murine malaria. Nature 258, 149-151 (1975)

Jerusalem, C.: Active immunization against malaria (Plasmodium berghei). III. Enhanced immunity caused by blockade of the RES-macrophages during controlled low parasitemia. Z. Tropenmedizin Parasitol. 2o, 81-88 (1969)

Jerusalem, C. und W. Kretschmar: Untersuchungen zur Nucleinsäuresynthese der Malaria-Erreger an milchernährten Mäusen (Plasmodium berghei) Z. Parasitenk. 28, 193-21o (1967)

Leonhardt, H.: Histologie, Zytologie und Mikroanatomie des Menschen. Stuttgart: Thieme Verlag, 1974 (4. Aufl.)

Loose, L.D., J.A. Cooke and N.R. di Luzio: Malaria immunosuppression - a macrophage mediated defect.
Proc. Helminth. Soc. (Washington) 39, 484 (1972)

Loose, L.D. and N.R. di Luzio: A temperal relationship between RES phagocytic alterations and antibody responses in mice infected with P.berghei (NYV-2 strain).
American J. Trop. Med. Hyg. 25 N° 2, 221-228 (1976)

Maegraith, B.G.: Liver involvement in acute mammalian malaria with special reference to Plasmodium knowlesi'malaria.
Adv. Parasitol. 6, 189-231 (1968)

Maegraith, B.G., J. Deegan and E.S. Jones: Suppression of malaria (Plasmodium berghei) by milk.
Brit. med. J. 2, 1382-1384 (1952)

Marchalonis, J.J.: Lymphocyte receptors for antigen.
J. Med. (Basel) 5, 329 (1974)

McGregor, I.A. and M. Barr: Antibody response to tetanus toxoid inoculations in malarious and non-malarious Gambian children.
Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg. 56, 364-367 (1962)

Mitchell, J.: Lymphocyte circulation in the spleen: Marginal zone bridging channels and their possible role in cell traffic.
Immunology 24, 93-1o7 (1973)

Moran, C.J., V.S. de Rivera and J.L. Turk: The immunological significance of histological changes in the spleen and liver in mouse malaria.
Clin. exp. Immunol. 13, 467-478 (1973)

Mungyerova, G. und C. Jerusalem: Reaktionen von Milzzellen in vitro bei der experimentellen Malariainfektion (Plasmodium berghei).
Z. Zellforschung 71, 364 (1966)

Osunkoya, B.C., A.I.O. Williams and S. Reddy: Spontaneous lymphocyte transformation in leucocyte cultures of children with falciparum malaria.
Tropical and Geographical Medicine 24, 157-161 (1972)

Raviola, E.: The immune system.
In: A textbook of histology (eds. Bloom, W. and D.W. Fawcett), pp. 427-456. Philadelphia, London, Toronto: W.B. Saunders Company, 1oth ed. 1975

Salaman, M.H.: Immunodepression by mammalian viruses and plasmodia.
Proceedings Roy. Soc. Med. 63, 11-15 (197o)

Salaman, M.H. and N. Wedderburn: The interaction of Plasmodium berghei Yoelii infection in mice with murine oncogenic viruses.
Transactions Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 64, 469 (197o)

Salaman, M.H., N. Wedderburn and L.J. Bruce-Chwatt: The immunosuppressive effect of a murine plasmodium and interaction with murine oncogenic viruses.
J. Gen. Microbiology 59, 383-391 (1969)

Scaife, J.J. and P.V. Vittorio: The use of ^{51}Cr as a sensitive quantitative criterion of early radiation damage to rat thymocytes.
Canad. J. Biochem. 42, 5o3-512 (1964)

Singer, I.: The cellular reactions to infections with Plasmodium berghei in the white mouse.
J. Infect. Dis. 94, 241-261 (1954)

Sprent, J., J.F.A.P. Miller and G.P. Mitchell: Antigen-induced selective recruitment of recirculating lymphocytes.
Cell. Immunol. 2, 171-181 (1971)

Wedderburn, N. and J.L. Turk: Chronic malarial infection in BALB/c mice. Effect on the immune response to SRBC and histological changes in the liver and spleen.
Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 69, 468-47o (1975)

Weidanz, W.P. and R.C. Rank: Regional immunosuppression induced by Plasmodium berghei Yoelii infection in mice. Inf. Immunity 11, 211-212 (1975)

Zatz, M.M. and R.K. Gershon: Thymus dependance of lymphocyte trapping.
J. Immunol. 112, 1o1-1o6 (1974)

Zatz, M.M. and E.M. Lance: The distribution of 51-Cr labelled lymphoid cells in the mouse.
Cell. Immunol. 1, 3-17 (197o)

Zatz, M.M. and E.M. Lance: The distribution of ^{51}Cr labelled lymphocytes into antigen stimulated mice: lymphocyte trapping.
J. Exp. Med. 134, 224-241 (1971)

Zuckerman, A.: Current status of the immunology of blood and tissue protozoa. II. Plasmodium. A review.
Exp. Parasitol. 42, 374-446 (1977)

Zuckerman, A., D.T. Spira and N.A. Ron: A. quantitative study of phagocytosis in the spleen of rats infected with Plasmodium berghei.
In: Dynamic aspects of host-parasite relationships, vol. 1 (eds. Zuckerman, A. and D.W. Weiss), pp. 79-115. New York, London: Academic Press 1973

Zuckerman, A. and M. Yoeli: Age and sex factors influencing Plasmodium berghei infections in intact and splenectomized rats.
J. Inf. Dis. 94, 225-236 (1954)

D a n k

Die experimentellen Arbeiten durfte ich als Gaststudent in der protozoologischen Abteilung des Instituts für Mikrobiologie der "Hadassah Medical School" (Hebräische Universität in Jerusalem, Israel) während des Studienjahres 1976/77 durchführen unter der Anleitung von Prof. Dan T. Spira. Vor allem ihm, sowie Prof. C. Greenblatt und allen übrigen Mitarbeitern des mir ans Herz gewachsenen Departments sei gedankt, nicht zuletzt auch der inzwischen verstorbenen Leiterin der Abteilung, Frau Prof. Aviva Zuckerman, die den Beginn der Arbeiten mit interessanten Diskussionen förderte.

Herr Prof. Dr. Gerhard Piekarski war so freundlich, den Gegenstand meiner dortigen Arbeiten als Dissertationsthema anzunehmen und mich während der ganzen Zeit mit Geduld und Ratschlägen zu unterstützen.

In Jerusalem nahmen alle den hereingeschneiten deutschen Studenten unter ihre liebenswerten Fittiche. Ich denke dabei nicht nur an die mannigfachen Hilfestellungen, Diskussionen, Ratschläge und Aufmunterungen im Rahemn der wissenschaftlichen Arbeit, sondern ebenso an die vielen Einladungen, Denkanstöße und Gelegenheiten, mich vertraut werden zu lassen mit den Besonderheiten der heterogenen israelischen Gesellschaft und der jüdischen Umgebung, die mir auch zu einem verfeinerten Bewußtsein verhalfen für die spezifische Situation eines jungen Deutschen im Staat Israel. Möge für die ganze Region und allen ihren Bewohnern der Friede bald Wirklichkeit werden!

Den Mitarbeitern des Medizinisch-Parasitologischen Instituts der Universität Bonn danke ich für viele Ratschläge und technische Hilfestellungen bei der Abfassung der Dissertation.

L e b e n s l a u f

Am 7.6.1952 wurde ich in Bückeburg geboren.
Meine Eltern, Tassilo Bitzan und Gisela Bitzan, geb. Martini, unterrichteten als Lehrer an einer Volksschule.
Im April 1959 wurde ich in Bilshausen eingeschult; vier Jahre später wechselte ich auf das Gymnasium der Stadt Duderstadt (altsprachlicher Zweig).
Das Zeugnis der Reife erhielt ich am 18.05.71.
Anstelle des Zivildienstes begann ich im September desselben Jahres einen achtzehnmonatigen Einsatz mit der "Aktion Sühnezeichen/Friedensdienste" in Israel.
Nach einsemestrigem Studium der Theologie an der Universität Bonn (Sommersemester 1973) nahm ich das Medizinstudium an derselben Universität auf.
Ärztliche Vorprüfung: August 1975.
Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung: August 1976.
Während des Studienjahres 76/77 hatte ich Gelegenheit, in der protozoologischen Abteilung des Hadassah-Klinikums der Hebräischen Universität in Jerusalem die experimentellen Untersuchungen für diese Dissertation durchzuführen und in der Klinik selbst zu famulieren.
Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung: März 1979.
Während des "Praktischen Jahres" wurde ich im Jung-Stilling-Krankenhaus in Siegen in den Fächern Innere Medizin, Chirurgie und Anästhesiologie ausgebildet.
Ärztliche Prüfung: 25.o4.198o
Die Approbation als Arzt wurde mir durch den Regierungspräsidenten in Köln am 23.o6.198o erteilt.